

UNIVERSITE JEAN MONNET - SAINT ETIENNE

Ecole Doctorale : Sciences, Ingénierie et Santé

THESE DE DOCTORAT

En Biologie Végétale

présentée et soutenue publiquement par

Antoine CHAMPAGNE

Le 18 janvier 2010

Diversité chimique et biofortification des plantes à racines et tubercules tropicales cultivées : Caractérisation des parents et élaboration de protocoles permettant l'optimisation de la sélection.

Co-Directeurs de Thèse :

**M. Vincent LEBOT
M. Laurent LEGENDRE**

Jury :

Mme N. **PEREK**, Université de Lyon
M. T. **HENDRIKS**, Université de Lille I
M. D. **McKEY**, Université de Montpellier II
M. L. **LEGENDRE**, Université Jean Monnet, Saint Etienne
M. V. **LEBOT**, CIRAD, Port-Vila, Vanouatou

Présidente du jury
Rapporteur
Rapporteur
Co-Directeur de Thèse
Co-Directeur de Thèse

REMERCIEMENTS

Pour commencer ce mémoire, je tiens à exprimer ma gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ces travaux. En premier lieu, pour avoir financé et participé à la mise en œuvre du projet dans lequel s'inscrit cette thèse, je tiens à remercier le FFEM (Fond Français pour l'Environnement Mondial), le CIRAD (Centre International pour la Recherche Agronomique et le Développement) et le MQAFF (Ministry of Quarantine, Agriculture, Fishery and Forestry) du Vanouatou.

Ensuite mes remerciements amicaux se dirigent vers mes co-directeurs de thèse qui m'ont transmis des connaissances et des savoir-faire plus que fondamentaux. Vincent Lebot, pour sa gentillesse, sa franchise passionnée et avisée, mais aussi pour ses remontées d'huile (parfois utiles...) et bien sûr son investissement à l'élaboration du projet et à l'encadrement de ma thèse. Laurent Legendre, pour sa gentillesse, son aide et son soutien permanent, mais aussi pour ses conseils très judicieux. Merci de m'avoir encadré, ce fut un plaisir de partager avec vous deux.

Un merci tout particulier à mes amis vanuatais de la première et de la seconde heure qui ont toujours été gentiment présents Sylvano Malres et Tari Molisale pour tous les moments partagés au sein de ces petites communautés insulaires, nos soirées, nos week-ends et tout le reste. Roger Malapa, mon cher voisin et ami qui m'a accompagné et aidé durant mes séjours dans ce beau pays. Bien sûr ce sont eux qui m'ont appris le bishlama et je tiens à remercier également "ol frend blon nakamal blon apines: fes, mi wantem sendem wan bikfala tankiu lon raet hant blon mi, Paulin, wan tankiu lon ol pipol blon Malteveivi, TséTsé, Edilberg, Bacon, Serge, Laurenty, Marc, Nemsek blon mi, Marius, Rocky, Philippe, Bertin, Julio... mi save se mi forketem plenti tumas pipol ia be ioraet mi stap tinktink lon iufala iet mo mi save se wan de bae mi kom bak long paradaes blong iumi ! Mi mas sendem wan bikfala tankiu lon ol women, ol mama mo ol pikinini blon ol frend blon mi, from ol man-Vanuatu oli drink kava plenti... i mekem se ol pikinini oli stap nomo". Un remerciement spécial pour Marie Melteras la directrice du VARTC (*Vanuatu Akrikaltjural Riserch mo Teknikal Centa*), Margot, Mauricette et Elfrida pour leur aide et nos discussions de bureau. Une pensée à ceux qui ne méritaient pas d'être emportés si tôt et à leurs familles, et évidemment pour Marie-Thérèse quotidiennement présente qui nous a grandement aidé.

Je tiens à remercier mes collègues et amis de France de l'INRA-Bordeaux : Stéphane, Ghislaine, Dominique, Annick, Sarah, Benoît, Marie-Hélène, Bertrand, Katia, Catherine, Pierrot, Heidia, Holmi, Matthieu, Nicolas, Jean-Pierre... du CIRAD : Julie, Marie-France, Claudie, Hâna, Nathalie et toute l'équipe... de l'UJM : Frédéric... encore une fois je suis sûr d'en oublier mais vous avez tous été on ne peut plus agréables et accueillants.

Un grand merci à mes amis occidentaux, ceux de la première heure avec qui je n'ai pas pu passer autant de temps que voulu, Niko, Renée, Vantoine, Cycyx, Benj'amin, Floflow et tous les autres... ceux de l'heure Bordelaise, Pantxo, Kak, Chacha, Youss, Bernard... sans oublier ceux croisés sur la route ou en dehors...

Enfin, pour ma famille et mon petit Cœur, merci à vous. Pas besoin d'explicitier et de s'étendre plus que d'habitude, vous comptez énormément, alors MERCI pour votre soutien et votre présence (malgré mon absence) tout au long de ce long périple...

RESUME

L'agrobiodiversité s'étudie au niveau génotypique mais également au niveau de l'expression chimique de ce génotype, le chimiotype. Les plantes à racines et tubercules tropicales (manioc, patate douce, ignames et taros) sont multipliées par voie asexuée et les bases génétiques sont bien souvent étroites chez les cultivars traditionnels. Malgré les faibles diversités génétiques révélées à l'aide de marqueurs ADN, les chimiotypes sont très variables et leur étude est riche d'informations. Ces cultures vivrières, plantes amylacées mais aussi sources de molécules intéressantes pour les industries alimentaire et pharmaceutique, tiennent un rôle déterminant dans la garantie de la sécurité alimentaire des pays du Sud. Dans cette optique, leur amélioration génétique par voie conventionnelle est une contribution majeure aux enjeux actuels. De nombreux efforts restent néanmoins à réaliser pour analyser, compiler et disséminer les informations liées à la diversité des compositions et teneurs de plantes qui restent sous-utilisées ou non appréciées à leur juste valeur.

La biofortification qui vise une amélioration des propriétés nutritionnelles de ces plantes, présente de nombreux avantages dont le principal est de ne pas modifier les comportements alimentaires tout en permettant une meilleure adaptation environnementale des nouveaux génotypes. Leur amélioration passe par une sélection des parents basée sur leurs valeurs propres et le criblage de grands nombres d'individus hybrides. Le processus est long et fastidieux. L'élaboration de nouveaux outils permettant une optimisation de cette tâche est donc nécessaire.

L'analyse d'échantillons représentatifs de la variabilité chimiotypique des collections du Vanouatou, un archipel Mélanésien abritant une riche agrobiodiversité, a permis d'étudier les relations entre composés majeurs, métabolites secondaire et préférences alimentaires locales. Les corrélations mises en évidence permettent d'apporter des éléments utiles à la compréhension du processus de sélection traditionnelle. L'identification des préférences visées par ce processus aident à comprendre les goûts et les attentes des consommateurs, et donc à mieux définir les idéotypes ciblés par les programmes d'amélioration. Ce travail a permis un premier criblage chimiotypique d'un grand nombre de cultivars appartenant aux deux espèces majeures, le taro (*Colocasia esculenta*) et la grande igname (*Dioscorea alata*).

L'étude des caroténoïdes et des anthocyanes a permis d'identifier un certain nombre de cultivars comme parents potentiellement intéressants pour la biofortification mais aussi pour l'exploitation commerciale directe des clones. La caractérisation des hybrides, obtenus par panmixie et pollinisations libres au cours de cycles de sélection récurrente, indique que des gains importants sont obtenus pour des composés et métabolites essentiels.

Les avancées réalisées dans le cadre de ce travail, et leurs conséquences pour les programmes d'amélioration génétique en cours, sont discutées. Les perspectives de mise au point de nouveaux outils de criblage et de nouvelles méthodes de caractérisation qui permettront *in fine* une meilleure approche de la biofortification de ces cultures vivrières, sont aussi envisagées.

Mots Clefs : amélioration génétique conventionnelle, anthocyanes, aracées, composés phénoliques, diversité chimiotypique, igname, caroténoïdes, manioc, patate douce, plantes à racines et tubercule, sélection traditionnelle, taro.

ABSTRACT

Agronomic selection generates and maintains agrobiodiversity which can be regarded as an essential resource. To describe phenotypic diversity, genotypes as well as their chemical expression, chemotypes, have been widely used. Tropical root and tuber crops are vegetatively propagated and their genetic bases are often narrow. Therefore, unveiling the impressive phenotypic diversity is still rather difficult through genotyping alone, whereas chemotype studies are very informative. Tropical root crops are staples and represent a good source of compounds related to health benefits and used in food and pharmaceutical industries. Those crops have key-roles to play in food security for developing countries and so plant breeding cannot be neglected. Biofortification is effective and does not imply change of dietary behaviours. Analysing, computing and compiling data bases for chemical data on diversity of neglected crops are still needed. Biofortification involving mass selection and profiling of numerous accessions is, however, time-consuming. Thus, efficient protocols and tools facilitating this process are required.

Chemotypic variability within Vanuatu germplasm was characterised through core samples from different species and relationships between primary compounds, secondary metabolites and local preferences have been studied. Useful correlations were shown, thus clarifying traditional selection process. This process has permitted the definition of ideotypes that will be interesting for the management of breeding programmes. At least for the two most important species in Vanuatu - taro *Colocasia esculenta* and the greater yam *Dioscorea alata* - our work is the first broad screening of germplasm. The study of carotenoid and anthocyanin content indicates that some cultivars show potential for commercial exploitation. With the aim of improving staple foods by plant breeding, we identified accessions to be selected as parents for future crosses.

Key words: anthocyanins, aroids, cassava, chemotypic diversity, conventional plant breeding, carotenoids, phenolic compounds, root and tuber crops, sweet potato, taro, traditional selection, yam.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACIAR : Australian Centre for International Agricultural Research
AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism
AG : équivalent Acide Gallique
C3G : équivalent Cyanidine-3-Glucoside
CIAT : Centro Internacional de Agricultura Tropical
CIP : Centro Internacional de la Papa
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
CTCRI: Central Tuber Crops Research Institute
DBD : Détecteur à Barrette de Diode
HEX : hexaconazole
IITA : International Institute for Tropical Agriculture
KONARC : Kyushu Okinawa region National Agricultural Research Center
MB : Matière Bouillie
MF : Matière Fraîche
MS : Matière Sèche
NCSU : North Carolina State University
QGE : équivalent Quercétine
QTL : Quantitative Trait Locus
RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
RT : plante à Racines et Tubercules tropicale
SAM : Sélection Assistée par Marqueur
SPIR : Spectrométrie du Proche InfraRouge
SSR : Simple Sequence Repeat
TDM : triadimefon
TILLING : Targeting Induced Local Lesions IN Genomes
USDA : United States Department of Agriculture
VNTR : Variable Number Tandem Repeat

SOMMAIRE

PREMIER CHAPITRE : INTRODUCTION GENERALE

1. L'amélioration génétique des plantes à racines et tubercules tropicales : objectifs et stratégies	1
1.1 Les enjeux pour les pays du Sud	1
1.2 Des plantes diverses à caractéristiques communes	4
2. Le contexte de la thèse	7
2.1 L'agrobiodiversité au Vanouatou	7
2.2 Le cadre du projet au Vanouatou	7
2.3 Objet et déroulement du travail	8
3. Bref rappel des contraintes liées à l'amélioration génétique des plantes à racines et tubercules tropicales	11
Les objectifs de la sélection	11
Le cadre de l'amélioration	11

DEUXIEME CHAPITRE : LES COMPOSES MAJEURS

1. De la variabilité des chimiotypes aux différents usages	16
1.1 La variabilité des teneurs et compositions en composés majeurs	16
1.2 Les contraintes liées à l'amélioration génétique des composés majeurs	17
Le manioc	17
La patate douce	21
Les ignames	23
Les aracées	25
1.3 Les exigences liées aux préparations culinaires	28
L'élimination des facteurs anti-nutritionnels	28
Les caractéristiques recherchées par le consommateur	31
Les composantes de la texture et leur évaluation	32
2. Mise en évidence d'opportunités pour l'amélioration	33

TROISIEME CHAPITRE : LES CAROTENOÏDES

1. Des enjeux considérables.....	51
1.1 Présentation.....	51
1.2 Intérêts nutritionnels	52
1.3 Des enjeux internationaux	53
1.4 Les contraintes liées à l'amélioration génétique des RT	54
Le cadre de l'amélioration	54
Patate douce.....	54
Manioc	57
Aracées	57
Ignames	58

1.5	Autres facteurs affectant les compositions	58
1.6	Les contraintes liées aux objectifs des programmes actuels	60
2.	Mise en évidence d'opportunités pour la biofortification	60

QUATRIEME CHAPITRE : LES COMPOSES PHENOLIQUES

1.	Un intérêt toujours croissant.....	87
1.1	Présentation des composés phénoliques	87
1.2	Intérêts pour les plantes et l'Homme	89
1.3	Valorisation de l'agrobiodiversité et applications commerciales	91
1.4	Les composantes de la variabilité	93
	Patate douce.....	93
	Ignames	97
	Aracées	97
	Manioc	98
1.5	Les déterminants environnementaux et génétiques.....	98
2.	Exploration interspécifique des RT.....	99

CINQUIEME CHAPITRE : LA BIOFORTIFICATION

Evaluation du potentiel d'amélioration génétique des chimiotypes de taro et de patate douce.....	126
---	------------

SIXIEME CHAPITRE : DISCUSSION, CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

1.	Récapitulatif des résultats acquis et des avancées réalisées	148
1.1	Composés majeurs	148
1.2	Caroténoïdes.....	149
1.3	Composés phénoliques.....	149
2.	Evolution, domestication et sélection traditionnelle des chimiotypes	150
2.1	L'évolution naturelle des chimiotypes.....	150
2.2	L'adéquation entre chimiotypes et usages.....	153
2.3	La sélection de chimiotypes	156
3.	L'amélioration génétique des chimiotypes, nouvelles méthodologies et nouveaux outils	157
4.	Conclusions et Perspectives	159

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	163
-----------------------------------	-----

ANNEXES	181
---------------	-----

PREMIER CHAPITRE : INTRODUCTION GENERALE



Tarodièrre irriguée du chef Benoit (*Pesséna, Espiritu Santo*)

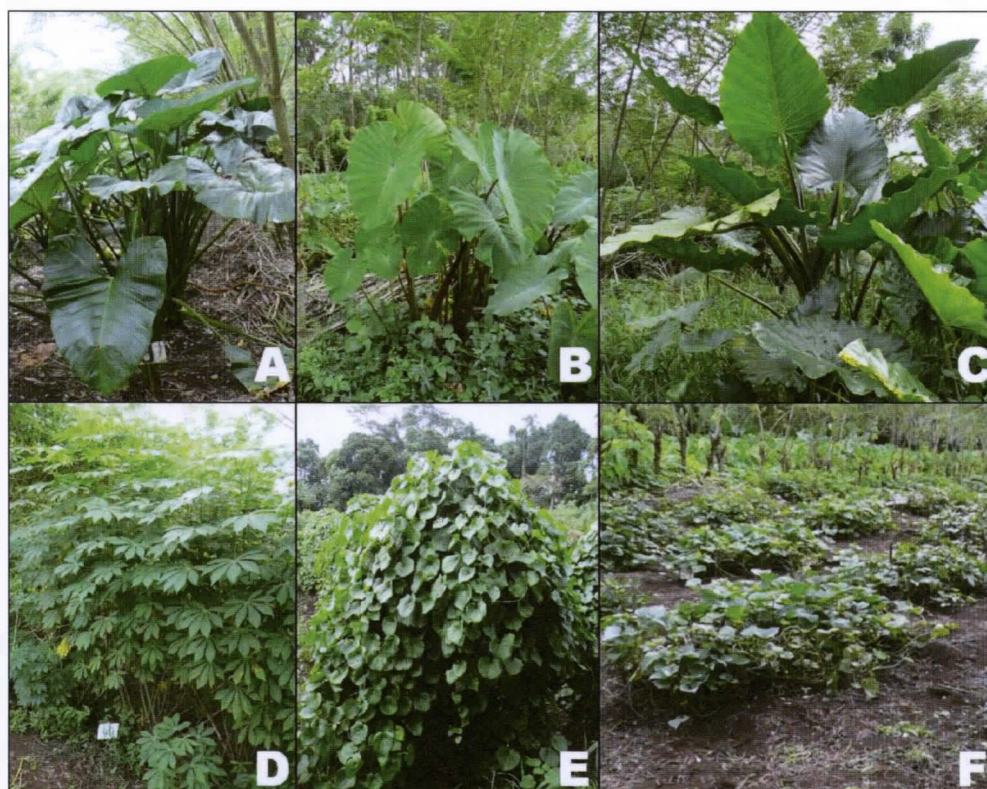


Figure 1 : Principales RT cultivées au Vanouatou (le macabo, *Xanthosoma sagittifolium*, A ; le taro, *Colocasia esculenta*, B ; l'alocase, *Alocasia macrorrhiza*, C ; le manioc, *Manihot esculenta*, D ; les ignames, *Dioscorea* spp., E ; la patate douce, *Ipomoea batatas*, F)

PREMIER CHAPITRE : INTRODUCTION GENERALE

1. L'amélioration génétique des plantes à racines et tubercules tropicales : objectifs et stratégies

1.1 Les enjeux pour les pays du Sud

Aujourd'hui, environ 1,02 milliard de personnes sont considérées comme sous-alimentées (FAO, 2009). L'insécurité alimentaire n'est pas systématiquement due à de mauvaises récoltes mais aussi à l'augmentation des prix internationaux des céréales et à la baisse des revenus dans les pays du Sud. Ce sont donc les milieux urbains pauvres qui sont tout d'abord touchés puisque ce mode de vie implique l'achat d'alimentation. Depuis les années 70, de nombreux investissements en termes de recherche agronomique et d'infrastructures pour l'irrigation ont permis de meilleurs rendements céréaliers. Une baisse de la proportion de personnes sous alimentées dans les pays du Sud a pu ainsi être observée. Néanmoins, depuis les années 90, la tendance est inquiétante et l'augmentation des rendements céréaliers ne semble plus pouvoir suivre celle de la population dans les pays en voie de développement. Ces phénomènes poussent les foyers les plus pauvres à une réduction de la diversité de leur régime alimentaire et plus généralement à une limitation des dépenses essentielles. Le résultat est une consommation d'aliments moins nutritifs, mais aussi la réduction du budget alloué à la santé et à l'éducation. Ces transformations sont particulièrement dramatiques pour les enfants et évidemment, plus encore, pour les filles. Ceci est d'autant plus inquiétant qu'il est désormais accepté que la demande en céréales va continuer d'augmenter. Ceci risque d'être accentué par leur utilisation comme biocarburants et par le coût des énergies fossiles utilisées pour leur production et leur transport (FAO, 2009).

Afin d'assurer la sécurité alimentaire dans ces pays très vulnérables, particulièrement en milieu urbain, il paraît essentiel de disposer d'une alternative aux grandes productions céréalières. Bien que la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) soit aujourd'hui le légume le plus consommé de la planète, les exigences pédoclimatiques des variétés modernes rendent sa culture en milieu tropical relativement inadaptée. Dans les pays du Sud, sa culture et encore plus spécialement sa consommation, restent donc limitées. Dans les régions tropicales, les plantes à racines et tubercules tropicales (RT = manioc, patate douce, ignames et aracées) sont moins sensibles que les céréales aux aléas climatiques. Dans les statistiques, elles constituent le deuxième groupe de plantes cultivées dans les pays du Sud, juste après les céréales. Elles représentent annuellement une production de 414 millions de tonnes pour une superficie d'environ 44 millions d'hectares (www.fao.org). Ces plantes contribuent aujourd'hui, et pourraient contribuer plus encore à l'avenir, à la diversification de l'alimentation.

Dans certaines régions, les RT constituent une part importante de l'alimentation de base des populations locales. Par exemple, la patate douce (*Ipomoea batatas* L.) est importante en Chine, le manioc (*Manihot esculenta* Crantz.) au Brésil et en Afrique humide, les ignames (*Dioscorea* spp.) de la Côte d'Ivoire au Nigéria, les aracées telles que le taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) et le macabo (*Xanthosoma sagittifolium* L.) au Ghana, au Nigéria, en Chine et dans toute la zone tropicale humide (FAO Stat, 2009).

Certaines espèces de RT sont considérées comme les plantes des ancêtres, comme par exemple en Afrique où l'on parle de civilisation de l'igname, ou encore en Océanie où l'on retrouve des peuples de l'igname et du taro (Bonnemaison, 1986). A l'instar du taro, ces espèces



Figure 2 : Variabilité morphologique de tubercules d'ignames au Vanouatou



Figure 3 : Variabilité morphologique de cormes de taro au Vanouatou

compteraient parmi les plus anciennes cultures et sont donc tenues en estime particulière (Haudricourt et Hédin, 1987). Elles représentent parfois la seule source de revenus pour les populations les plus isolées. Ceci est très important pour les femmes, puisque ce sont souvent elles qui les vendent sur les marchés et cette activité leur fournit ainsi une certaine indépendance dans des pays où l'éducation est souvent réservée aux hommes.

La sécurité alimentaire des pays tropicaux en voie de développement est aujourd'hui encore insatisfaisante et il serait intéressant pour ces régions d'accroître leur indépendance alimentaire, par exemple en limitant les importations de céréales surtout produites au Nord (blé et maïs). Les RT pourraient ainsi être considérées comme des plantes d'avenir, permettant une alternative essentielle pour la diversification des cultures et de l'alimentation. Ces cultures locales, de fortes valeurs socioculturelle et traditionnelle, devraient donc jouer un rôle encore plus important à l'avenir. D'un point de vue agronomique, avec un apport d'intrants limité, les RT affichent des rendements élevés en zone tropicale humide. Les caractéristiques physico-chimiques des différents cultivars, leurs rendements observés et potentiels, leur vaste distribution géographique, mais aussi leurs propriétés organoleptiques, sont autant de facteurs qui déterminent leur valeur pour les pays en voie de développement.

La transformation du mode de vie dans la majorité des pays du Sud serait conditionnée par trois facteurs majeurs (Raoult-Wack and Bricas, 2002) :

- la demande en nourriture est en augmentation constante, en relation avec la croissance démographique de la population mondiale et les conséquences toucheront, bien évidemment, prioritairement les pays les plus pauvres.
- les lieux où les besoins en nourriture augmentent, s'éloignent de plus en plus des lieux de production, à cause d'un exode rural constamment croissant. Et dans un contexte de dégradation de l'environnement, ces enjeux devront tôt ou tard être pris en compte.
- la spécificité des demandes en nourriture change, en relation avec l'évolution des modes de vie. Moins de temps est accordé aux préparations culinaires ainsi qu'au repas en lui-même, les femmes travaillent et les gens mangent de plus en plus à l'extérieur du foyer.

Afin de tenter d'assurer la sécurité alimentaire mais aussi une meilleure santé, il semble utile de s'intéresser à des solutions accompagnant ces transformations. Par exemple, il est possible de préparer de "bons" plats traditionnels dans le Pacifique (Bourrieau, 2000), comme en Afrique, à partir de farines de RT. Le procédé est plus rapide, la matière première est moins volumineuse diminuant ainsi le coût de transport et de stockage, mais aussi la durée de conservation possible est nettement plus longue par rapport au frais. Plusieurs travaux se sont même penchés sur la faisabilité d'incorporer de telles farines dans la fabrication du pain et ainsi réduire les importations de farine de blé (Ammar *et al.*, 2009 ; Eggleston *et al.*, 1993 ; Hsu *et al.*, 2004).

Les plus pauvres doivent souvent se contenter d'une alimentation de base dont il est essentiel d'améliorer la qualité. Les graves problèmes de santé causés par un régime alimentaire déséquilibré en sont une triste illustration. Les compléments alimentaires coûteux ne sont évidemment pas la solution la mieux adaptée à ces populations et le concept d'aliment fonctionnel prend ici une dimension particulière. L'alimentation se doit de couvrir les besoins de chacun et les carences, par exemple en vitamines, représentent encore de graves problèmes dans certains pays. La qualité des aliments consommés est donc un facteur essentiel à ne pas négliger dans les stratégies nutritionnelles de ces pays.

Etant donnée l'importance des RT dans de nombreux pays tropicaux pauvres, il est important pour l'amélioration de ces cultures de rente ou vivrières, de disposer de données précises sur leurs compositions chimiques et sur la génétique de ces espèces. Pourtant, malgré un nombre d'études croissants et des programmes internationaux comme "HarvestPlus" mené par le CGIAR (*Consultative Group for International Agricultural Research*), d'importants efforts sont encore à réaliser. Comparées aux cultures d'intérêt économique équivalent, ces plantes demeurent encore trop peu étudiées et d'importants investissements scientifiques sont nécessaires afin d'accroître la sécurité alimentaire des pays du Sud.

1.2 Des plantes diverses à caractéristiques communes

Les RT sont des plantes amylacées cultivées pour leurs organes de réserve souterrains et sont plus ou moins interchangeables entre elles, en culture ou dans l'alimentation. Les feuilles de quasiment toutes ces espèces (ignames mises à part) sont aussi consommables comme légumes riches en vitamines et en protéines. Les espèces sauvages apparentées sont pérennes mais tous les cultivars sont multipliés de manière végétative stricte et leur culture est annuelle. Malgré ces traits communs, les principales RT appartiennent à des familles botaniques distantes : le manioc est une *Euphorbiaceae*, la patate douce est une *Convolvulaceae*, les ignames sont des *Dioscoreaceae* et les taro, macabo et alocase sont des *Araceae*.

Au niveau de l'architecture de la plante et de sa morphologie, ces espèces présentent des parties aériennes de différents types : le manioc est un arbuste, les ignames sont des lianes grimpantes, la patate douce une liane rampante et les *Araceae* sont des plantes herbacées (Figure 1). Il en va de même pour les organes de réserve souterrains. Les racines du manioc et de la patate douce, les tubercules des ignames et les cormes ou cormelles des *Araceae* sont des organes présentant des physiologies bien différentes. Les RT dévoilent également une diversité morphologique remarquable au niveau intraspécifique, entre les cultivars. La forme, la taille et la couleur des feuilles, la longueur des entre-nœuds, le diamètre, la longueur et les couleurs des tiges, mais aussi la forme et la taille des organes souterrains de réserve sont fortement variables (Figures 2 et 3).

Cette diversité visible reflète en partie celle qui est observée à l'échelle génétique. Pour les principales espèces cultivées, des études de diversité génétique ont été menées à l'aide de marqueurs isoenzymatiques et au moyen de marqueurs moléculaires de types RFLP, AFLP, RAPD, SSR et VNTR (Fregene *et al.*, 1997 ; Krieke *et al.*, 2004 ; Lakhanpaul *et al.*, 2003 ; Lebot and Aradhya, 1991 ; Lebot *et al.*, 1998 ; Lebot *et al.*, 2004 ; Malapa *et al.*, 2005 ; Mignouna *et al.*, 2003 ; Noyer *et al.*, 2004 ; Quero-García *et al.*, 2004, 2006 ; Sardos *et al.*, 2008). Toutes ces études montrent une diversité liée aux origines géographiques et aux divers foyers de domestication et de diversification de ces plantes. Cette diversité génétique résulte aussi de forts taux d'hétérozygotie qui traduisent leur allogamie prédominante ou parfois même leur dioécie, comme dans le cas des *Dioscorea* spp.

Les RT présentent assurément de la variabilité à des niveaux très divers. Elles sont souvent consommées quotidiennement et ce sont donc leurs propriétés organoleptiques, directement liées aux caractéristiques physico-chimiques, qui définissent une "bonne" variété. C'est vraisemblablement sur les critères phénotypiques les plus visibles que s'effectue la première étape de la sélection traditionnelle. Par exemple, au niveau de la chair de leurs organes de stockage, ces plantes présentent selon les cultivars, des racines ou des tubercules de couleurs très variées allant du blanc au violet foncé en passant par le jaune, l'orange, le rose, le rouge et le

violet. Ces organes peuvent être de couleur uniforme, bicolore, voire tricolore parfois, avec des fibres colorées ou non. Ces couleurs sont généralement associées à des pigments, présents en concentrations variables : les caroténoïdes dont les plus connus sont l'*all-trans-β*-carotène et la lutéine, qui présentent respectivement des couleurs orange et jaune ; les flavonoïdes comme les anthocyanes qui varient entre le rouge et le bleu ou certains flavonols qui paraissent jaune clair. C'est donc le subtil mélange de ces molécules qui permet la diversité des couleurs de chair.

Une étape particulièrement importante dans la sélection traditionnelle de ces plantes alimentaires est bien sûr celle qui passe par la cuisine et par l'appréciation des propriétés organoleptiques. On peut considérer que les modes de préparation sont liés à ces diverses propriétés. Ainsi, que chaque cultivar est traditionnellement associé à une manière particulière de le préparer. Certains seront bouillis, d'autres braisés ou encore transformés en farine, purée ou pâte de type pudding. Les usages des RT sont donc très variés et selon les régions du monde les procédés de transformation employés changent.

En Afrique équatoriale, on prépare le *foufou* ou *foutou* à partir de féculents bouillis et longuement pilés ou à base de farine et d'eau (généralement avec du manioc, des bananes plantains (*Musa spp.*), de maïs (*Zea mays*) ou des ignames. L'*achu* est l'équivalent du *foutou* au Ghana mais il est préparé avec du taro. L'*achicha* est préparé au Nigéria à partir de taro ou de macabo cuit et séché. La fermentation est également couramment utilisée, c'est le cas des racines de manioc broyées pour la préparation du *gari* (semoule finement granulée et séchée) au Nigéria, Bénin et Togo, de l'*attiéké* (semoule cuite à la vapeur) en Côte d'Ivoire, ou encore de l'*agbelima* ou du *placali* (à base de pâte fermentée) respectivement au Ghana et en Côte d'Ivoire. En Afrique de l'Est, la patate douce est séchée en tranches ou en farine, par exemple, pour fabriquer l'*asap* (genre de pain) en Ouganda. En Amérique du sud, la *farinha* ressemble au *gari* et le *casabé* à un *gari* préparé à partir de l'amidon extrait des racines de manioc. En Asie, on extrait traditionnellement l'amidon de la patate douce pour faire des nouilles en Chine ou au Vietnam. Aux Philippines, le *landang* est préparé à partir de la pulpe de manioc frais pressé. Enfin, en Océanie, on trouve le *poi* formant une pâte fermentée (à base de taro) à Hawaï ou le *laplap* du Vanouatou, genre de pudding de RT ou autres produits amylacés (bananes plantains ou fruits de l'arbre à pain) finement râpées avant d'être cuits à l'étouffée. La liste n'est pas exhaustive mais l'on peut rajouter tout de même que dans de nombreux pays tropicaux, ces plantes sont désormais fréquemment consommées, surtout en milieu urbain, sous forme de chips ou de frites.



Figure 4 : Jardin mélanésien traditionnel : un système particulier de végéculture

2. Le contexte de la thèse

2.1 L'agrobiodiversité au Vanouatou

En Mélanésie en général, et au Vanouatou en particulier, les cultures traditionnellement prédominantes sont le taro (*Colocasia esculenta*) et la grande igname (*Dioscorea alata*). Elles ont vraisemblablement été introduites par les premiers migrants il y a environ 3 000 ans. Les paysans visent l'autosuffisance alimentaire, pratiquent rarement la monoculture et plantent, en association ou en successions culturales, différentes autres espèces qui contribuent toutes à assurer l'alimentation de base ainsi que la limitation des risques. De grandes variations sont observées au niveau des agrosystèmes et les espèces américaines de RT récemment introduites, représentent des cultures en pleine expansion. La rusticité du manioc, la productivité de la patate douce et la facilité de culture du macabo en font, en effet, des cultures de choix.

C'est donc au sein d'un agrosystème de polyculture, le "jardin mélanésien" (Figure 4) qu'un réservoir de diversité agro-morphologique important a pu être entretenu. Cette agrobiodiversité est associée à une gestion paysanne traditionnelle très fortement liée à différents facteurs socioculturels locaux. La sélection traditionnelle de ces plantes, effectuée par les populations depuis des centaines d'années a joué, et joue encore, un rôle très important dans le processus de création et de gestion de l'agrobiodiversité. En Mélanésie, la sélection de différentes variétés représente donc un système particulièrement complexe. Ce système mène à une variabilité qui est remarquable et probablement unique au monde pour certaines espèces de RT, notamment pour la grande igname (*D. alata*), une plante d'importance internationale.

Cette impressionnante diversité cultivée doit sans nul doute être mise en relation avec les "*kastom*" (coutumes) locales, qui constituent un ensemble comprenant culture, croyances, rituels et usages traditionnels. Celles-ci accordent une place toute particulière à ces plantes qui constituent, en plus de la base du régime alimentaire vanouatais, une forte valeur d'échange. Certains types de cultivars, *via* des pratiques culturelles particulières, sont ainsi extrêmement appréciés pour les cérémonies traditionnelles, alors que d'autres seront plutôt réservés à la consommation quotidienne. Ces éléments expliquent, en partie, la diversité observée au Vanouatou chez ces espèces et cultivars, tous à finalité alimentaire.

2.2 Le cadre du projet au Vanouatou

Cette thèse s'inscrit dans un projet intitulé « Agrobiodiversité des plantes à racines et tubercules au Vanouatou », financé par le Fonds Français pour l'Environnement Mondial (FFEM), le Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) et le Ministère de l'Agriculture, des Forêts, des Pêches et de la Quarantaine du Vanouatou (MQAFF).

La problématique étudiée est celle de la stratégie de gestion paysanne de l'agrobiodiversité des RT (aux niveaux intra- et inter-spécifique) et des relations éventuelles entre cette gestion et la variabilité physico-chimique de ces espèces.

Ce projet vise à mettre au point des outils adaptés à l'étude, la préservation et l'utilisation de l'agrobiodiversité des RT (www.agrobiodiversite.org) et teste l'hypothèse selon laquelle la distribution géographique de la diversité allélique permet *in fine*, une meilleure conservation des ressources génétiques en se basant sur la dynamique de gestion observée au sein des systèmes de

culture. Une des difficultés majeures de cette approche provient de l'acceptabilité, par les producteurs et les consommateurs, des génotypes distribués et nécessite donc sur une caractérisation précise des chimiotypes.

Le dispositif expérimental du projet "agrobiodiversité" est composé de cinq villages de zone humide (où le taro est la culture dominante) et de cinq villages de zone sèche (où l'igname est la culture dominante). Chaque village étant situé sur une île différente, les savoirs et échantillons récoltés sont représentatifs de la diversité exploitée au Vanouatou (Figure 5).

Les accessions récoltées dans le cadre de ce projet ont été plantées en collection *ex situ* au Centre Technique de Recherche Agronomique du Vanouatou (CTRAV) situé sur l'île de Santo. A ce dispositif s'ajoutent les accessions collectées et décrites par le SPYN (*South Pacific Yam Network*) et le TANSO (*Taro Network for Southeast Asia and Oceania*) ainsi que de nombreux hybrides créés en station et destinés à être distribués pour injecter de la diversité allélique *in situ*. Toutes ces accessions ont été sélectionnées par les producteurs locaux ou les améliorateurs, pour des caractéristiques agronomiques classiques mais aussi en tentant de correspondre aux exigences organoleptiques locales. Leur caractérisation a été réalisée depuis une dizaine d'années à l'aide de descripteurs morpho-agronomiques et de marqueurs moléculaires (Malapa, 2005 ; Quero-Garcia, 2004 ; Sardos, 2008) et des programmes d'amélioration génétique sont actuellement conduits sur ces plantes par le CIRAD et le CTRAV.

2.3 Objet et déroulement du travail

Les recherches entreprises dans le cadre de notre travail portent essentiellement sur la variabilité physico-chimique et sur l'étude de la sélection traditionnelle des chimiotypes au Vanouatou, un pays où les consommateurs ont de fortes exigences du fait de la valeur culturelle de ces plantes.

Nous nous intéressons plus particulièrement à l'étude du processus d'amélioration génétique des RT en milieu traditionnel et aux contraintes et opportunités liées à sa mise en œuvre en station de recherches. Les objectifs sont d'étudier les différents aspects liés à la diversité des cultivars, qui révèlent des préférences mais qui permettent aussi de mieux comprendre les savoirs traditionnels et les logiques paysannes associées. Treize espèces cultivées sont donc concernées par notre travail (*Colocasia esculenta*, *Alocasia macrorrhiza*, *Dioscorea alata*, *D. bulbifera*, *D. esculenta*, *D. nummularia*, *D. pentaphylla*, *D. transversa*, *D. cayenensis-rotundata*, *D. spp.* (espèces de *Dioscorea* non identifiées), *Ipomoea batatas*, *Manihot esculenta*, *Xanthosoma sagittifolium*).

Le plan de la présente thèse se compose de quatre chapitres. Chaque chapitre présente une brève synthèse bibliographique sur le sujet, puis nos travaux de recherche qui sont résumés sous la forme d'un article et enfin, une discussion générale sur les résultats acquis et les avancées réalisées.

Puisqu'il s'agit de plantes alimentaires de base, les composés majeurs constituent évidemment l'attrait principal pour le consommateur. De ce fait, l'objet du premier article vise à identifier des voies d'amélioration, en accord avec les préférences locales. Il a donc d'abord fallu définir les idéotypes correspondant aux cultivars appréciés au Vanouatou. L'hypothèse était qu'une forte variabilité physico-chimique existe et qu'elle est bien rapportée à dire d'acteurs comme étant déterminante pour les goûts. L'étude de la variabilité des caractéristiques des organes souterrains, cormes, racines ou tubercules, est donc abordée *via* l'étude des teneurs en amidon, protéines, sucres totaux, minéraux et cellulose. L'objectif principal de cette étude était de montrer que l'amélioration génétique devrait viser des chimiotypes correspondant à des

compositions relatives clairement identifiées pour satisfaire les goûts des consommateurs. Ce premier article est publié en 2009 dans le *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Dans un deuxième temps, l'étude des compositions et teneurs en métabolites secondaires, en particulier les pigments (caroténoïdes et composés phénoliques), est orientée de manière à pouvoir établir les bases d'une biofortification de ces espèces par amélioration génétique. Il s'agit, en plus de l'étude de la diversité chimique, de s'assurer que la biofortification est possible en accord avec les besoins nutritionnels, les exigences agronomiques, ainsi que les préférences organoleptiques locales.

Un deuxième et troisième articles, étudient donc la variabilité des teneurs et compositions, respectivement en caroténoïdes et en composés phénoliques en partant d'un échantillonnage représentatif de la diversité observée chez ces plantes. L'hypothèse était que certaines couleurs de chair sont recherchées et qu'elles correspondent à des compositions particulières et qu'elles jouent, elles aussi, un rôle dans le contrôle des goûts. L'objectif était de caractériser les compositions et teneurs pour chaque espèce afin d'identifier celles qui seraient potentiellement intéressantes en termes de biofortification. Ces articles exploratoires portent principalement sur l'étude interspécifique. Ils ont été soumis au *Journal of Food Composition and Analysis*.

Dans l'optique d'une étude plus approfondie du potentiel d'amélioration génétique des chimiotypes, deux espèces de RT ont été choisies: le taro, plante ancestrale particulièrement importante au Vanouatou, et la patate douce, représentant les espèces plus récemment introduites dont la culture suscite de plus en plus d'intérêt. Une étude sur les caractéristiques comparées des hybrides et de leurs parents est présentée et les gains obtenus sont discutés. Cette étude fait l'objet d'un quatrième article, en préparation.

Enfin, la dernière partie de cette thèse présente une discussion sur l'ensemble des résultats produits par l'analyse des chimiotypes. Elle envisage des perspectives pour l'étude de l'agrobiodiversité et des processus de domestication qui ont conduit à la variabilité observée aujourd'hui mais aussi en ce qui concerne les stratégies d'amélioration génétique qui visent la biofortification.

Le plan de cette thèse suit donc celui des articles qui la compose et il peut parfois mener à certaines répétitions en raison des incontournables introductions nécessaires à chaque article. Nous prions le lecteur de bien vouloir nous en excuser.

Compte tenu de l'orientation donnée à nos travaux, nous pensons qu'il est utile de présenter, au préalable, un bref rappel des contraintes liées à l'amélioration génétique des RT, au niveau international, de manière à mieux situer le cadre général de notre réflexion et de notre thèse.

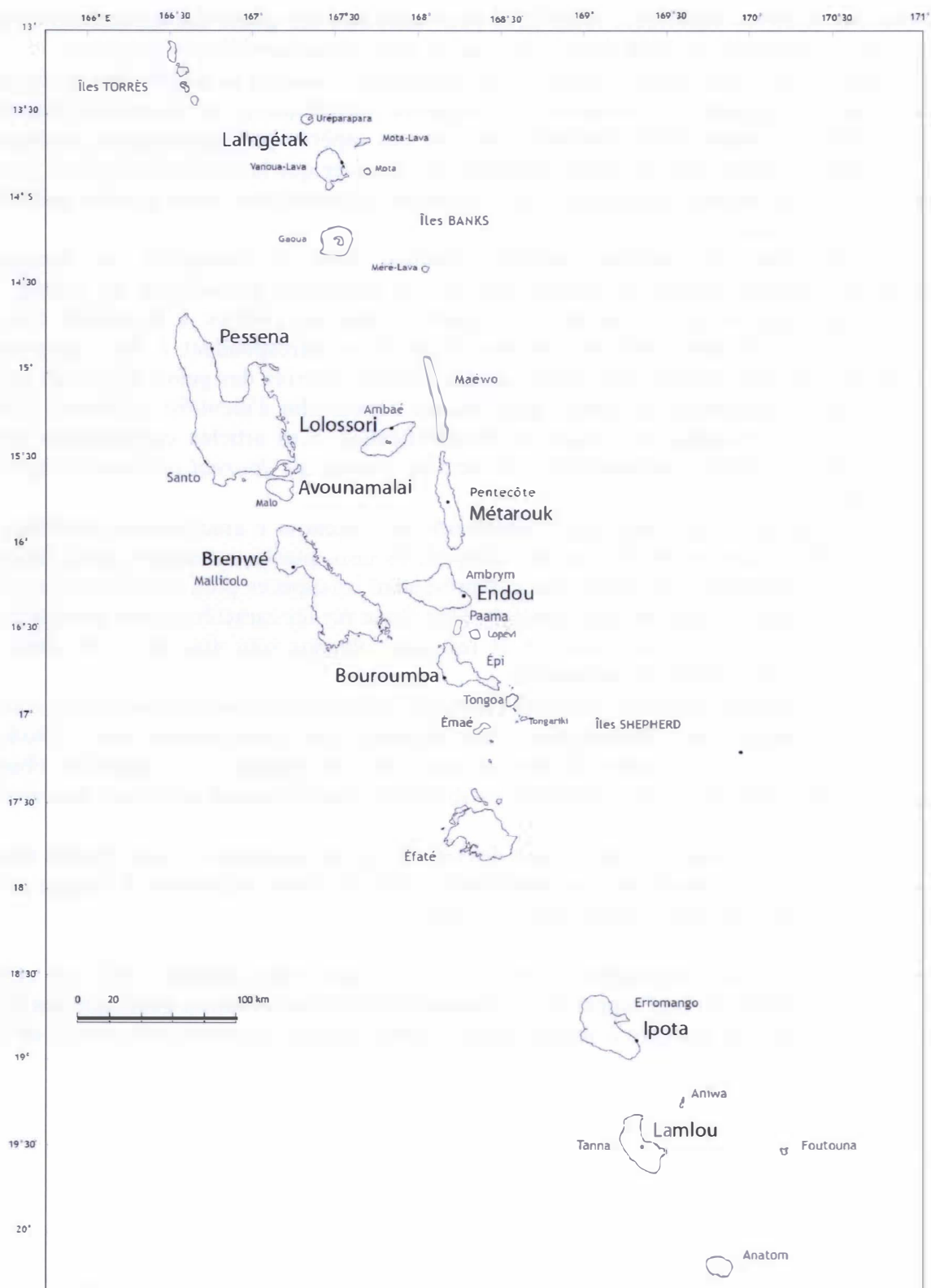


Figure 5 : Carte du Vanouatou présentant les villages concernés par les collectes

3. **Bref rappel des contraintes liées à l'amélioration génétique des plantes à racines et tubercules tropicales**

Les objectifs de la sélection

L'amélioration des plantes a pour but de créer de nouvelles variétés à partir de la diversité existante et donc de créer de la variabilité. La création variétale est directement issue du besoin d'assurer une nourriture régulière, abondante et diversifiée. Le premier objectif de l'amélioration demeure la productivité, mais la qualité du produit s'avère également très importante et rentre directement en compte dans la définition d'un idéotype. Cet idéotype représente la cible de tout améliorateur et bien sûr, de nombreux critères de différentes natures sont inclus dans sa définition. Par exemple, la productivité peut être le résultat de la réduction des facteurs limitant le rendement mais aussi être augmentée par une amélioration de la physiologie des plantes. Les plantes s'adaptant aux conditions de sol et de climat, les génotypes sélectionnés dans un environnement donné peuvent, en étant déplacées, ne plus correspondre à l'idéotype recherché (Toyama *et al.*, 2006).

Les plantes à racines et tubercules sont essentiellement cultivées pour les caractéristiques physico-chimiques de leurs organes souterrains. De ce fait, outre les résistances et les rendements, il s'agit le plus souvent d'améliorer leurs chimiotypes qui peuvent présenter:

- des teneurs en sucres particuliers, comme chez la patate douce,
- des teneurs en protéines, comme chez le manioc, plutôt pauvre,
- des proportions relatives entre les composés majeurs qui permettent une bonne transformation en un produit traditionnel complexe, comme pour le *foutou* en Afrique ou le *laplap* au Vanouatou,
- ou encore les teneurs en amidon, comme chez les pommes de terre, maniocs et patates douces destinés à l'industrie.

L'amélioration de ces plantes vise donc deux objectifs : l'amélioration de la qualité et des propriétés nutritionnelles pour les consommateurs (connue sous l'anglicisme de « biofortification ») et la sélection de clones performants pour l'industrie. Au vu des diverses préparations culinaires existantes, il semble logique que des cultivars développés pour l'industrie, fort demandeuse en teneurs élevées en amidon, ne soient pas adaptés à toutes les préparations culinaires locales. De manière analogue, dans les pays développés il existe dans le commerce des variétés de pomme de terre recommandées pour confectionner des frites (faibles teneurs en sucres pour éviter les brunissements), pour l'extraction de fécule ou la production d'alcool (« *Vodka* »), pour être bouillies ou pour des usages plus polyvalents. Ce sont donc bel et bien les compositions chimiques qui déterminent l'utilisation d'une variété de RT. De nos jours, de nouvelles demandes sont formulées dans la définition des idéotypes : par exemple, participer à la préservation de l'environnement avec des cultivars moins exigeants en intrants, correspondre aux demandes industrielles de tous genres et produire des molécules intéressantes pour la santé. Les idéotypes sont divers et deviennent donc de plus en plus complexes à définir mais aussi à atteindre.

Le cadre de l'amélioration

Les RT sont des plantes allogames, essentiellement multipliées de manière végétative. Les stratégies d'amélioration des RT reposent la plupart du temps sur des croisements entre deux plantes choisies pour leurs caractères intéressants et complémentaires, afin de tenter de réunir ces

caractères en une seule variété (Lebot, 2009). En sélectionnant les meilleures plantes parmi les parents potentiels mais aussi au sein de la descendance, les sélectionneurs effectuent un long travail d'épurations successives. On peut donc considérer la sélection comme le criblage d'un grand nombre de génotypes et, fort heureusement, il existe plusieurs manières d'effectuer cette recherche. La supériorité des hybrides est définie *via* les caractéristiques recherchées et en comparaison avec les valeurs propres de leurs parents.

Dans le but d'obtenir des résultats significatifs, les moyens utilisés sont variés et dépendent souvent de l'investissement, qui est dans la plupart des cas, relativement modeste. Néanmoins, les moyens mis en œuvre classiquement permettent d'apporter des résultats significatifs et de produire constamment de nouvelles variétés. Il s'agit généralement d'amélioration dite conventionnelle, c'est à dire passant par des croisements contrôlés ou non, afin de tenter de capturer de l'hétérosis. Au sens strict, l'hétérosis désigne la supériorité de la valeur moyenne des hybrides par rapport à celle de la meilleure population parentale et c'est bien sûr l'objectif visé par l'amélioration (Grahama *et al.*, 1999). Ceci n'est pas aisé pour des plantes allogames et fortement hétérozygotes. Il est d'ailleurs possible de ne pas retrouver dans les descendance des combinaisons alléliques qui apportaient de la valeur aux parents. On peut naturellement obtenir une combinaison allélique moins intéressante ou en croisant avec un autre parent trop proche, on peut obtenir de l'homozygotie et donc de la dépression consanguine. Ce processus d'amélioration contient de ce fait deux phases critiques qui correspondent en réalité à deux phases de sélection, c'est à dire :

- en amont des croisements (contrôlés ou libres) : le choix de parents potentiellement intéressants parmi de nombreux génotypes présents en collection est crucial.
- en aval de ces croisements : le criblage de grands nombres de descendants pour les caractères recherchés est également prépondérant.

Evidemment, dans ce processus impliquant des plants hétérozygotes, il est impossible de deviner avant les croisements, la manière dont va se dérouler le brassage génétique et donc de contrôler la diversité chez les hybrides produits. Aussi méticuleux que soit le choix des parents, les descendance obtenues présentent souvent des caractères en très grande partie aléatoires. A cela s'ajoute que les techniques de sélection des hybrides demeurent imparfaites et les objectifs de cette sélection sont de plus en plus plurifactoriels. Ceci engendre évidemment l'élimination régulière de génotypes intéressants. Ces criblages correspondent donc à des choix hiérarchisés et ce sont eux qui laissent passer ou retiennent les génotypes intéressants. L'amélioration doit de plus, suivre un long processus de sélection récurrente avant d'effectivement porter ses fruits.

Puisque nous sommes dans des cycles de sélection récurrente, les hybrides produits puis sélectionnés seront sans doute les parents des prochains croisements. De ce fait, que ce soit pour choisir les parents ou les hybrides intéressants, il est indispensable de passer par le criblage et d'apprécier précisément les valeurs propres d'un grand nombre d'accessions. Ce processus, illustré par la figure 6, présente pour inconvénient majeur le besoin de gérer de très gros effectifs d'accessions (Lebot *et al.*, 2005).

La démarche consiste à produire un grand nombre d'hybrides présentant la variabilité la plus grande possible et à appliquer une forte pression de sélection dès les premiers cycles afin de limiter la gestion de milliers de génotypes au champ. En pratique, l'idée est d'alterner génération sexuée (phase de brassage génétique) et générations clonales (phases de sélection successives). En fin de processus, il convient de confirmer les hybrides sélectionnés, en les évaluant au cours d'essais multilocaux, aux parents pour apprécier les gains réalisés.

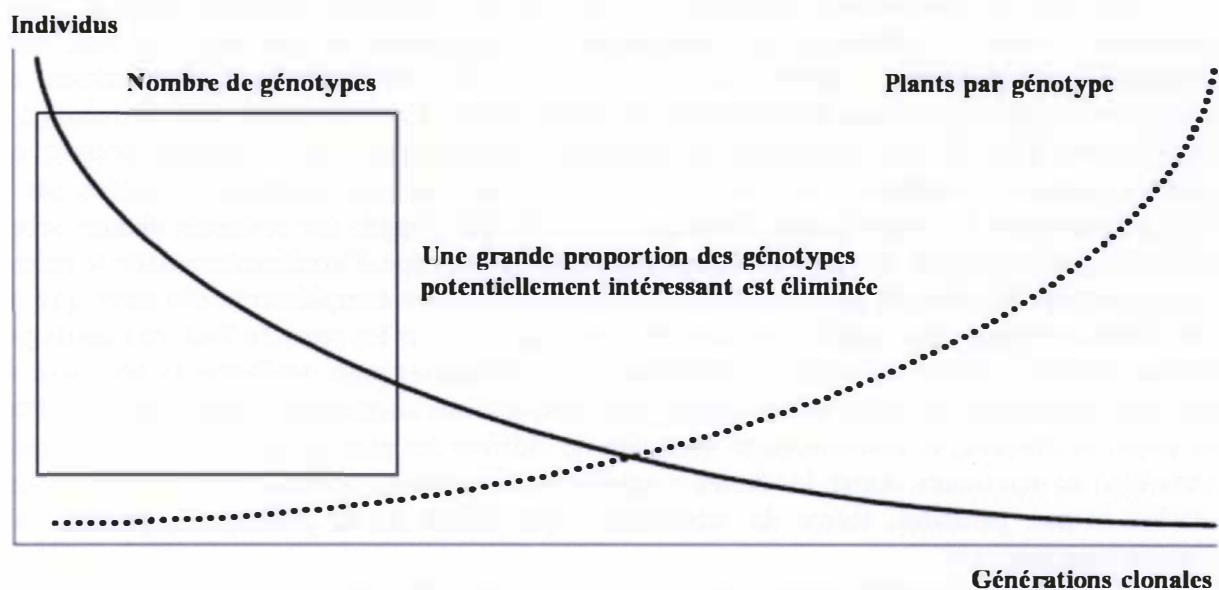


Figure 6 : La sélection de nouveaux génotypes est basée sur des caractères phénotypiques visibles et entraîne donc l'élimination de chimiotypes potentiellement intéressants.

Pour des raisons de coûts et surtout faute de méthodes plus performantes, la sélection s'opère encore aujourd'hui de manière visuelle et commence bien souvent par l'allure générale de l'hybride. En général, ce sont les génotypes présentant une sensibilité aux pathogènes qui sont éliminés le plus facilement puisque la pression environnementale est souvent forte et le pathogène omniprésent dans les parcelles (Lebot, 2009). Du fait de cette forte sélection, un nombre important de chimiotypes potentiellement intéressants est éliminé et un simple manque de vigueur lors de la génération séminale (celle que connaissent les hybrides issus de graines au champ, juste avant le premier criblage) peut ainsi amener à la perte de génotypes potentiellement intéressants. Un génotype très intéressant, par exemple pour ses teneurs en micronutriments, peut être éliminé uniquement à cause de son phénotype visible et donc cette première étape dans le processus de sélection est cruciale (Lebot *et al.*, 2005).

Dans l'optique de rendre plus efficace cette méthode d'amélioration génétique, il convient donc d'optimiser les étapes nécessaires à la sélection. Des outils plus ou moins bien adaptés ont été développés pour assister cette sélection. Par exemple, les phénotypes peuvent être définis de manière classique par l'utilisation de descripteurs agro-morphologiques, les moins coûteux, basés sur des critères visuels. Les technologies de marquage moléculaire servent à déterminer la structure de la diversité génétique existante, ce qui rend ainsi possible une optimisation du choix des géniteurs pour les croisements. En effet, des parents génétiquement distants ont plus de chance de produire des descendance très variées et donc plus faciles à sélectionner. Des marqueurs moléculaires peuvent également être associés à des caractères intéressants, ce qui permet des sélections précoces sur ces caractères (sélection assistée par marqueurs ou SAM). Ces

technologies nouvelles permettent essentiellement d'augmenter la précision et l'efficacité de la sélection et conduisent à de meilleurs résultats.

Une fois les croisements effectués, il convient de rechercher l'introggression de gènes intéressants à travers le phénotype des descendance. L'association de marqueurs de tous types (génétiques, enzymatiques, métaboliques, etc.) avec des caractéristiques recherchées est couramment appelée génétique d'association (Rafalski, 2010). Le génotypage, correspondant à la caractérisation fine *via* des techniques de génétique moléculaire, a fait de grands progrès ces dernières années. Néanmoins, les études d'association se trouvent maintenant limitées par la faible performance du phénotypage. Bien que les outils développés sur certaines plantes soient parfois très perfectionnés, ils restent très coûteux, mais le principe d'amélioration reste le même. Il repose sur la sélection de parents choisis en fonction de leurs complémentarités ainsi que sur leurs valeurs propres. Sur certaines plantes très importantes pour les pays du Sud, des outils peu coûteux, faciles à mettre en œuvre et efficaces sont nécessaires pour améliorer la précision de cette étape importante qu'est le phénotypage des compositions chimiques, le chimiotypage. Pour être fiable et efficace, le chimiotypage nécessite de cultiver les plantes dans un environnement standardisé au maximum. Ainsi, les facteurs agronomiques classiques (rendement, résistance aux maladies et aux parasites, forme du tubercule...) qui jouent sur la production, peuvent être évalués rigoureusement.

La recherche en amélioration des plantes tente aussi de mettre au point et d'utiliser les biotechnologies végétales. Par exemple, il est possible de contrôler les croisements *via* une fécondation artificielle de type fusion de protoplastes. Ou encore en tentant de s'affranchir de l'étape de croisement parfois hasardeuse, *via* divers procédés de mutagenèse, pour induire des mutations (ciblées ou non) sur graines par exemple ou d'effectuer des transformations de cellules (également ciblées ou non). Des essais ont été réalisés sur les RT, mais les résultats ne sont pas concluants, probablement du fait des moyens limités qui sont accordés au développement de ces techniques sur ces plantes (Evans, 2009).

SECOND CHAPITRE : LES COMPOSES MAJEURS



Echantillons de matière sèche de taro

SECOND CHAPITRE : LES COMPOSES MAJEURS

1. De la variabilité des chimiotypes aux différents usages

1.1 La variabilité des teneurs et compositions en composés majeurs

Peu de références sont disponibles sur les variabilités inter- et intra-spécifique pouvant orienter les choix des marchés, même si des études ponctuelles concernent certaines espèces. La liste des espèces qui nous intéressent est longue et on ne présentera ici qu'une brève synthèse permettant de se faire une idée de cette variabilité. Les quantités de lipides, bien qu'également fort variables, sont très faibles et ne seront pas considérées dans cette synthèse.

Le travail mené par Bradbury et Holloway (1988) constitue du point de vue de la nutrition, une des rares études comparatives pour les teneurs en composés majeurs, en incluant comme références, pour comparaison, le riz blanc, des légumineuses (*Vigna* sp., *Phaseolus* sp. ou *Pisum* sp.) et des légumes verts (feuilles de taro) (Tableau 1).

Tableau 1 : Teneurs des différents composés en % sur 100g de matière fraîche d'aliments non cuits (d'après Bradbury et Holloway, 1988).

Composé	<i>I. bat.</i>	<i>M. esc.</i>	<i>C. esc.</i>	<i>X. sag.</i>	<i>A. mac.</i>	<i>D. ala.</i>	<i>D. esc.</i>	<i>D. num.</i>	<i>D. bul.</i>	<i>D. pen.</i>	<i>D. c.-r.</i>	Riz blanc	Pois lima	Feuille taro
Eau	71,1	62,8	69,1	67,1	70,3	77,3	74,2	71,9	81,7	82,5	65,7	12,0	12,0	85,0
Energie ⁽¹⁾	438	580	480	521	449	347	406	443	258	266	550	1500	1200	110
Protéines	1,43	0,53	1,12	1,55	2,15	2,24	2,15	2,06	2,04	1,94	1,42	6,50	22,0	4,20
Amidon	20,2	31,0	24,5	27,6	21,5	16,7	19,3	23,2	11,7	13,9	30,2	—	—	—
Sucres	2,38	0,83	1,01	0,42	0,96	1,03	0,55	0,22	0,20	0,12	0,32	—	—	—
Fibres	1,64	1,48	1,46	0,99	1,85	1,88	1,15	1,84	1,42	0,66	0,63	2,40	22,0	5,00
Lipides	0,17	0,17	0,10	0,11	0,10	0,08	0,06	0,06	0,05	0,03	0,09	—	—	—

I. bat. (*Ipomoea batatas*), *M. esc.* (*Manihot esculenta*), *C. esc.* (*Colocasia esculenta*), *X. sag.* (*Xanthosoma sagittifolium*), *A. mac.* (*Alocasia macrorrhiza*), *D. ala.* (*Dioscorea alata*), *D. esc.* (*D. esculenta*), *D. num.* (*D. nummularia*), *D. bul.* (*D. bulbifera*), *D. pen.* (*D. pentaphylla*), *D. c.-r.* (*D. cayenensis-rotundata*).

⁽¹⁾ en KJ/100g, (—) non analysé.

Afin de pouvoir situer les différents types d'aliments de base par rapport à leurs compositions, il faut préciser que les valeurs présentées dans le tableau 1 sont basées sur l'aliment avant préparation culinaire, correspondant donc à un aliment sec pour le riz et le pois. Après cuisson, ces valeurs changent proportionnellement à la quantité d'eau absorbée et celle-ci est beaucoup plus importante pour ces aliments secs. Les auteurs avancent que les valeurs énergétiques des RT sont tout à fait comparables à celles des céréales bouillies comme le riz et sont supérieures au pois et aux feuilles de taro bouillies. Pour les fibres, c'est le pois qui arrive en tête, suivi des feuilles de taro, des RT et du riz. En ce qui concerne les protéines, les meilleures sources sont les feuilles de taro et le pois, alors que les RT et le riz constitueraient des sources faibles. Enfin, pour les teneurs en minéraux comme le fer et calcium, le pois se place en première position, puis les feuilles de taro et les RT et en dernier, le riz blanc (Bradbury and Holloway,

1988). Le riz blanc, principale céréale tropicale (FAOStat, 2009), afficherait donc des valeurs nutritionnelles comparables à celles des RT, bien qu'en deçà pour certaines variétés.

Ce travail de synthèse permet une première comparaison des RT et la variabilité observée au niveau interspécifique est relativement importante. On note : une variation de 20% sur les pourcentages en eau, des valeurs qui varient d'un facteur 4 pour les protéines, et d'un facteur 3 pour les teneurs en amidon ou en fibres. Cependant, ce sont les teneurs en sucres qui affichent les plus grosses variations (un facteur d'environ 20) dont les teneurs sont très importantes chez la patate douce et sont très faibles chez *D. bulbifera* et *D. pentaphylla*. On remarque aussi que les teneurs en eau sont les plus élevées chez les ignames, avec *D. bulbifera* et *D. pentaphylla* en tête, et sont les plus faibles chez le manioc. Pour les teneurs en amidon, ce sont les variétés de manioc qui présentent des concentrations plus hautes suivies de près par les *D. cayenensis-rotundata*, alors que les *D. bulbifera* et *D. pentaphylla* sont les plus basses.

Cette étude pourtant exhaustive et incontournable, date de plus de vingt ans et les cultivars ont été améliorés depuis, ainsi que les techniques de quantification des composés. A cela s'ajoute un problème majeur : le fait que les plantes étudiées dans la synthèse de Bradbury et Holloway, correspondent à des échantillons provenant de différentes localités, de divers pays, et parfois même d'analyses basées sur des protocoles différents. L'influence de l'environnement sur l'expression du génotype ne peut être considérée comme négligeable et cela rend les comparaisons difficiles entre variétés.

Il existe aussi chez les RT des facteurs antinutritionnels présents en concentrations variables. Ce sont par exemple, les inhibiteurs de protéinases présents dans toutes les espèces (ils sont en très faible concentration chez le macabo et en très forte concentration chez l'alocase), les glucosides cyanogéniques du manioc, les cristaux d'oxalate de calcium des aracées (cause partielle de l'âcreté de certains cultivars) ou encore les alcaloïdes des ignames. Ces facteurs antinutritionnels peuvent parfois nécessiter l'utilisation d'une préparation culinaire particulière pour des variétés de manioc à fortes teneurs en composés cyanogéniques ou des alocases ou taros riches en oxalate de calcium, voire même les rendre tout bonnement impropres à la consommation. Ces composés ne sont donc à négliger dans les méthodes d'amélioration car chez ces plantes fortement hétérozygotes, le fardeau génétique est tel que ces caractères pouvant être délétères s'expriment dans les descendance.

1.2 Les contraintes liées à l'amélioration génétique des composés majeurs

Ces espèces sont plus ou moins travaillées et documentées au niveau scientifique, selon leur importance économique. Leur amélioration génétique porte essentiellement sur les caractères d'intérêt agronomique et l'amélioration des teneurs et compositions en composés majeurs en est encore à ses balbutiements.

Le manioc

Cette espèce, qui est la nourriture principale de plus de 800 millions de personnes est aussi la RT la plus étudiée, avec la patate douce. Dans de nombreux pays, l'utilisation du manioc a été favorisée par l'utilisation industrielle, mais aussi par la rusticité agronomique de cette plante, créant une source de revenus non-négligeable pour les producteurs, en Asie du Sud Est notamment.

Les idéotypes de cultivars destinés à l'industrie, qui représentent une partie importante de la production, doivent afficher de bons rendements ainsi que des teneurs élevées en amidon. En ce qui concerne les productions vivrières, destinées aux marchés locaux, les objectifs sont beaucoup plus complexes (Hillocks *et al.*, 2002) et peuvent être résumés comme suit :

- une tige par plant, la moins ramifiée possible, ne dépassant pas 2 m de hauteur et ayant des entre-nœuds courts,
- un indice de surface foliaire compris entre 3 et 3,5 (rapport entre surface des feuilles et celle du sol traduisant la capacité de la plante à intercepter le rayonnement lumineux), une grande surface foliaire individuelle et une longue durée de vie des feuilles,
- un grand nombre de racines par plant, environ huit au mieux,
- des racines compactes, faciles à récolter et à éplucher, contenant de faibles teneurs en composés cyanogéniques et de fortes teneurs en amidon, protéines et caroténoïdes et présentant une détérioration post-récolte réduite.

Ces critères de sélection représentent les grands objectifs des programmes d'amélioration même si certains sont toujours en cours de discussion. Par exemple, en Thaïlande, un indice de surface foliaire élevé (supérieur à 4) serait associé, pendant la saison des pluies, à de meilleurs rendements en termes d'amidon (Oka *et al.*, 1989).

A l'instar des objectifs courants de résistances aux pathogènes associés à des rendements accrus, l'influence de l'environnement est grande et elle est de plus en plus intégrée aux critères de sélection. Les maniocs africains sont touchés par deux principales maladies virales, la mosaïque du manioc (*cassava mosaic disease*) et la maladie de la marbrure du manioc (*cassava brown streak disease*), alors que la flétrissure bactérienne du manioc (*cassava bacterial blight*) causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* représente une contrainte majeure en Afrique, Asie et Amérique Latine. Il est donc normal que la sélection vise surtout des résistances.

Le manioc est la RT qui affiche les plus fortes teneurs en matière sèche et en amidon, tout en présentant une variabilité intra-spécifique importante. Par exemple, pour les teneurs de six cultivars des Iles Salomon étudiés par Bradbury et Holloway (1988), l'écart maximal entre les pourcentages de matière sèche (MS) est d'environ 13% (60,3 à 72,9% matière fraîche, MF) et de 11% (22,3 à 33,8% MS) pour l'amidon. Pour les sucres, la variabilité est également forte et un facteur 3 est observé (0,62 à 2,08% MS), alors que les protéines varient d'un facteur 2 (0,44 à 0,84% MS). Les teneurs en fibres ne semblent varier que peu. Mais cette espèce américaine affiche une bien plus forte variabilité dans la collection internationale du CIAT (*Centro internacional de Agricultura Tropical*) en Colombie. Pour les protéines, on observe une variabilité importante (0,95 à 6,42% MS) poussant même certains auteurs à considérer le manioc comme une source de protéines non négligeable (Ceballos *et al.*, 2006). De même, Chávez *et al.* (2005) montrent sur un échantillon plus large, environ 2500 accessions, que les teneurs en matière sèche (10,7 à 57,2% MF) ainsi que celles en sucres totaux (0,2 à 15% MS) varient énormément.

Même si certains génotypes ne fleurissent pas, aucune contrainte physiologique majeure ne s'oppose à l'amélioration génétique du manioc (Alves, 2002). La principale contrainte demeure la synchronisation des floraisons (Ceballos *et al.*, 2004), certains cultivars étant précoces (4-5 mois) et d'autres plus tardifs (8-10). Les graines produites ont souvent besoin d'une période de dormance qui peut être très longue avant germination ce qui ne facilite guère leur utilisation (Ellis *et al.*, 1982). La création de triploïdes est une stratégie envisagée depuis qu'ils

sont reconnus comme intéressants pour leur précocité et surtout pour leurs teneurs en matière sèche et en amidon (Jos *et al.*, 1987, Sreekumari *et al.*, 1999).

Au CTCRI (*Central Tuber Crops Research Institute*, en Inde), l'amélioration se fait notamment en évaluant les croisements de diploïdes ($2n=46$) et de tétraploïdes artificiels, dans le but d'obtenir des triploïdes. Une fois les hybrides sélectionnés pour leur absence de symptômes de viroses, ils sont multipliés et distribués. Ces triploïdes sont particulièrement intéressants pour l'industrie mais ne sont pas du goût des consommateurs (Sundaresan *et al.*, 1987 ; Abraham, com. pers. 2004) et leur diffusion est très lente.

L'identification et la localisation de QTL apportent des informations supplémentaires sur l'hérédité des caractères et permet d'assister la sélection. Récemment, des QTL ont été mis en évidence, répartis sur deux groupes de liaison pour les teneurs en composés cyanogéniques et six autres sur quatre groupes de liaison, pour la matière sèche (Balyejusa Kizito *et al.*, 2007).

Afin d'assurer une bonne diffusion géographique de diversité et la capture de génotypes intéressants pour les consommateurs, le CTCRI distribue de réelles semences botaniques de manioc de manière à multiplier les chances. Ces graines, du fait de l'hétérozygotie des cultivars, produisent des descendance morphologiquement et chimiquement très variées, ce qui peut constituer un réel avantage dans des environnements diversifiés (Rajendran *et al.*, 2005) mais leur utilisation par le petit paysannat demeure problématique.

Chez les cultivateurs amérindiens qui sélectionnent des phénotypes variés, une étude récente montre que le maintien et la création d'une certaine diversité génétique est réalisé par incorporation de plants issus de graines et par fixation de mutations somatiques (Duputié *et al.*, 2009). La variabilité est créée et entretenue grâce à ce processus de sélection traditionnelle, elle vise souvent et indirectement des chimiotypes adaptés aux usages. De nombreux travaux ont utilisé des marqueurs moléculaires afin d'étudier la diversité génétique des variétés de manioc (Elias *et al.*, 2004 ; Sardos *et al.*, 2008b ; Siqueira *et al.*, 2009).

Aujourd'hui, le CIAT (Colombie) et l'IITA (*International Institute for Tropical Agriculture*) au Nigéria, qui ont mené pendant longtemps la majeure partie des recherches sur le plan international, sont accompagnés par l'ILTAB (*International Laboratory for Tropical Agricultural Biotechnology*) et l'IPBO (*Institute of Plant Biotechnology for Developing Countries*). Les objectifs principaux de ces programmes visent les résistances aux maladies, les rendements individuels et les caractéristiques agro-morphologiques mais s'intéressent aussi aux composés majeurs.

Pour l'exploitation de l'amidon comme matière première dans l'industrie, sont principalement concernées l'alimentation humaine et animale mais aussi la papeterie, les adhésifs, les emballages, le textile, les matériaux de construction ou encore les cosmétiques. Un des objectifs du CIAT est par exemple la production de cultivars de manioc dont les amidons sont cireux (*waxy starches*), c'est à dire ayant de faibles teneurs en amylose et des teneurs élevées en amylopectine (>95%). La voie de la biosynthèse de l'amidon du manioc a été assez bien étudiée, elle permet l'identification de mutants induits et naturels pour les gènes codant des enzymes modifiant la structure du grain et le branchement du polymère d'amidon (Baguma *et al.*, 2003 ; Ceballos *et al.*, 2007 ; Ceballos *et al.*, 2008). Ce type d'amidon est particulièrement intéressant de part sa stabilité à la température et au pH des gels qu'il permet de former (Ceballos *et al.*, 2007).

L'industrie utilise actuellement des amidons principalement extraits d'une céréale, le maïs, mais l'avantage de l'amidon de manioc est sa facilité d'extraction grâce à ses faibles teneurs en lipides et protéines. Il donne ainsi un amidon d'un blanc pur et une absence de goût, contrairement aux céréales. Un problème majeur demeure la conservation après récolte des racines, un enjeu de taille pour valoriser cette culture. Certaines racines n'ont pas le temps d'atteindre le lieu de transformation, qu'elles sont déjà pourries et le moindre coup accélère le processus. Il en est de même pour les racines vendues sur les marchés locaux.

En ce qui concerne les usages destinés à la consommation locale, la majeure partie des travaux a donc été réalisée en Afrique et au CIAT. Grâce à l'étude de la biologie et de la génétique, des progrès significatifs ont été faits au cours des 30 dernières années, notamment en ce qui concerne les faibles teneurs en facteurs anti-nutritifs comme les composés cyanogéniques (Kawano *et al.*, 1998, 2003). Souvent associés à l'amertume des cultivars, les composés cyanogéniques (majoritairement la linamarine) ne seraient pas seuls à être impliqués et l'IAG (isopropyl- β -D-apiofuranosyl- β -D-glucopyranoside) serait également important et très présent dans les feuilles (King and Bradbury, 1996). Le goût amer relevé chez certains cultivars de manioc est positivement corrélé à des teneurs importantes en composés cyanogéniques (Chiwona-Karlton *et al.*, 2004). Les cultivars amers seraient plus riches en sucres totaux et en protéines que les cultivars doux, mais contiendraient par contre moins de fibres (Padonou *et al.*, 2004). Leurs amidons présenteraient également une viscosité inférieure et une solubilité supérieure. Cependant ces propriétés ne seraient pas liées aux teneurs en amylose de l'amidon, qui sont en fait équivalentes.

Un programme utilisant le TILLING (*Targeting Induced Local Lesions IN Genomes*) et le criblage de la diversité génétique produite à l'aide d'une méthode de génétique inverse à haut débit est en cours (Egesi *et al.*, 2004). Cette méthode implique le criblage transcriptomique à haut débit permettant la sélection de mutants produits artificiellement. Ce criblage est aussi appliqué à la variabilité génétique classiquement présente dans les populations d'amélioration (et en collection). Ainsi, deux voies sont principalement explorées, la résistance à la mosaïque du manioc et les teneurs et compositions en amidon. Cependant, un grand nombre de caractères d'intérêt agronomique (rendement, résistances quantitatives, digestibilité...) sont sous le contrôle de plusieurs gènes interagissant entre eux. Ceci limite actuellement l'utilisation de ces méthodes.

Bien que tous ces outils soient déjà au service de l'amélioration, on note que leur utilisation est encore très coûteuse, en termes de temps ou d'argent, tant au niveau de la mise au point qu'au niveau de l'analyse des résultats en routine.

Le programme international de biofortification "*HarvestPlus*", qui a pour objectif de produire des données nécessaires à l'amélioration nutritionnelle de plantes alimentaires étudie entre autres, la biofortification en fer, zinc et caroténoïdes (HarvestPlus, 2009). Notons enfin, que de nouveaux clones de manioc créés récemment, surnommés manioc sucrés (*sugary cassava*), affichent des maxima en sucres totaux atteignant 18.8% MS (Sánchez *et al.*, 2009). Dans une optique d'amélioration des qualités nutritives, la contrainte majeure étant la faible teneur en protéines des cultivars, avec les teneurs en caroténoïdes, les protéines restent donc les points cruciaux à améliorer aujourd'hui (CIAT, 2009 ; IITA, 2007).

Au vu de l'augmentation de la consommation de manioc, les propriétés culinaires sont maintenant prises en compte. Puisque les améliorateurs ont essuyé quelques échecs au niveau de l'acceptation des hybrides par les consommateurs, les études sur les propriétés culinaires se

révèlent d'autant plus essentielles. L'évaluation des préférences en termes de qualités hédoniques est donc jugée très importante (Safo-Kantaka *et al.*, 2002). Les améliorateurs de l'IITA ou du CIAT tentent de créer chaque année des variétés en accord avec les préférences locales mais les outils fiables pour cribler et sélectionner de nombreux hybrides ne sont toujours pas disponibles.

La patate douce

La patate douce est importante pour les pays du Sud mais aussi pour les pays développés (EU, Japon, Israël). Cette plante représente une matière première largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour la transformation en amidon, alcool et colorant principalement, mais aussi dans l'alimentation humaine (produit frais) et animale (feuilles). Précocité et rendements élevés sont les principaux objectifs recherchés par les améliorateurs et les cultivateurs. Ils doivent être associés à une bonne conservation après récolte, de bonnes propriétés organoleptiques et de fortes teneurs en amidon ou un bon rendement d'extraction (Kays and Kays, 1998). Pour ce qui est des contraintes supplémentaires, la gale de la patate douce, causée par le cryptogame *Elsinoe batatas*, pose problème en Asie plus particulièrement pour l'alimentation du bétail à partir du feuillage. En Afrique, ce sont principalement les virus qui affectent les cultures et les deux virus les plus fréquemment décrits sont celui de la panachure plumeuse transmis par des pucerons et celui du rabougrissement chlorotique transmis par la mouche blanche (Gibson, 2004). Ces contraintes en plus des stress abiotiques rencontrés, sont spécifiques de l'environnement et le CIP (*Centro Internacional de la Papa*, Pérou), en charge des recherches internationales pour cette culture, a développé de nombreuses collaborations régionales pour une meilleure adaptation aux conditions locales. Les charançons (*Cylas* spp.) peuvent également causer d'importants ravages dans presque toutes les régions de culture (Lebot, 2009).

La patate douce est un hexaploïde auto-incompatible avec $2n=6x=90$ chromosomes et les diploïdes et tétraploïdes d'espèces d'*Ipomoea* apparentées ne forment pas de racines tubérisées. Environ la moitié des accessions fleurissent et les fleurs croisées manuellement, donnent une ou deux graines, alors que les fleurs placées en pollinisation libre donnent deux à trois graines (Lebot, 2009). Le CIP distribue des cultivars élités issus d'amélioration et tente de recombinaison des cultivars particulièrement bien adaptés aux conditions locales. En échangeant des graines entre différentes régions (Amérique du Sud, Afrique et Asie), l'amélioration s'effectue en majorité dans des conditions se rapprochant de la panmixie, par pollinisations libres entre parents sélectionnés puis clonés ou par croisements contrôlés. Cette stratégie s'explique vraisemblablement par les résultats constants obtenus par ce type de sélection, fort simple mais efficace. Elle implique de fait, le phénotypage et le criblage de grands nombres d'accessions. Des centres nationaux ou privés existent aussi dans les régions de consommation et le caractère d'intérêt majeur pour cette culture est la précocité (cycle de trois mois). Les résistances aux différentes maladies et surtout aux charançons sont également d'importance (Lebot, 2009).

La patate douce est concernée par le programme international de biofortification "*HarvestPlus*" (HarvestPlus, 2009). De nombreuses études ont utilisé des marqueurs moléculaires (Elameen *et al.*, 2008). Le clonage et l'étude d'enzymes présentant une activité anti-oxydante, comme la glutathione réductase, ont aussi été réalisés (Chen *et al.*, 2009).

Aux Etats-Unis, des cultivars résistants aux maladies mais affichant de bons rendements et de bonnes propriétés de transformation culinaire, sont obtenus depuis le début des années 1970

(Jones *et al.*, 1986). Le cultivar "*Jewel*" a longtemps représenté 75% de la production totale nord-américaine. Il est considéré comme ayant les meilleures capacités d'adaptation à divers environnements. D'autres cultivars existent avec des caractéristiques particulières, utilisés pour une meilleure tolérance à une forte pluviométrie ou encore une certaine précocité. C'est en Caroline du Nord, région où la production est la plus importante, que l'on trouve l'un des plus vieux programmes d'amélioration mené par la *North Carolina State University* (NCSU). Les objectifs actuels de ce programme comprennent le développement de variétés à chair orange et à chair blanche, ayant un fort rendement, dont les performances agronomiques dépendent le moins possible de l'environnement, mais aussi des qualités pour la transformation (capacité à faire de bonnes frites, chips ou tartes). A titre d'exemple, des amidons ayant une faible viscosité induisent une texture de purée qui n'est pas appréciée par le consommateur américain (Collins *et al.*, 1995 ; Silva *et al.*, 1989). Ces programmes utilisent des méthodes classiques d'amélioration génétique ainsi que divers outils de biochimie, de génétique moléculaire d'association et des biotechnologies permettant de faciliter la sélection.

En Inde (au CTCRI) après la germination des graines issues de bloc polyclonal, la sélection s'opère sur le port de la plante, la couleur de la chair et de l'épiderme de la racine et la résistance aux pathogènes. La deuxième génération clonale permet de sélectionner sur des critères de rendement, de matière sèche et de goût. Après deux cycles de sélection, seulement 2 à 10% environ des hybrides sont conservés. La forte sélection élimine donc, sur la base des phénotypes visibles, un grand nombre de génotypes dès les premiers cycles, perdant probablement un certain nombre d'hybrides intéressants d'un point de vue chimique. De très nombreuses descendance sont évaluées ainsi tous les ans (Attaluri and Ilangantileke, 2007).

En Afrique, la patate douce est considérée de qualité si elle a de fortes teneurs en matière sèche et en carotènes. Au cours de l'évaluation de nouvelles variétés au Ghana, on note que les odeurs, couleurs et goûts sont significativement variables. Malgré les goûts individuels, les cultivars préférés pour l'alimentation de base présenteraient de faibles teneurs en sucres totaux (Opere-Obisaw *et al.*, 2000).

D'importantes variations sont aussi soulignées en ce qui concerne la matière sèche (13 à 43%), l'amidon (45 à 78% MS), les sucres (9 à 37% MS), les protéines (1,3 à plus de 10% MS) et les fibres (des traces à 2,6%) (Kays & Kays, 2000, Kays *et al.*, 2005). Ce dernier caractère est tout aussi important mais extrêmement variable. Par exemple, à partir d'un système de croisements par pollinisations libres entre génotypes différents, on retrouve dans les descendance des teneurs très faibles jusqu'à très élevées, presque comme du bois. La composition et les teneurs en amidon varient également très fortement et en fonction de la période pendant laquelle la variété est plantée et récoltée, les propriétés mêmes de l'amidon sont influencées (Noda *et al.*, 1997). Ces teneurs sont aussi influencées par d'autres facteurs environnementaux : on note une nette diminution des teneurs en amidon et sucres totaux en parallèle d'une augmentation de certains minéraux en présence de quantités élevées d'ozone dans l'air (Keutgen *et al.*, 2008).

Des études existent sur la variabilité des compositions et des teneurs en composés majeurs, mais également sur les facteurs agronomiques, génétiques ou environnementaux qui influencent ce type de variabilité. Par exemple, une étude menée par le CIP montre que les variations en composés majeurs sont corrélées à la couleur de la chair de la racine (Manrique and Roca, 2007). Ainsi, en comparant des teneurs moyennes, les accessions à chair violette

contiendraient beaucoup de matière sèche, de potassium et de calcium, alors que les variétés à chair orange montreraient de fortes valeurs pour le fer et le zinc, mais aussi pour le potassium et le calcium. Les variétés à chair blanche n'afficheraient que de hautes teneurs pour le zinc, toujours en comparaison avec les autres. Si on se réfère aux concentrations du cultivar américain "Jewel", il serait bien moins riche que la moyenne observée dans les variétés traditionnelles des collections du CIP, pour le fer, zinc, calcium, potassium et la matière sèche (Manrique and Roca, 2007).

Les ignames

Elles revêtent une importance particulière dans les régions tropicales africaines et en 2007, leur production arrivait en 19^{ème} position dans les pays du Sud (FAO Stat, 2009). Cependant, ces espèces, destinées aux marchés locaux et associées aux cultures locales, affichent des statistiques considérées comme en dessous de la production réelle. Les recherches ont principalement porté sur l'igname de Guinée (*D. cayenensis-rotundata*) et la grande igname (*D. alata*, également appelée igname ailée). L'avantage majeur des ignames est leur longue conservation après récolte, jusqu'à 4-6 mois. Ces espèces subissent divers types d'attaques, comme : des champignons (*Botryodiplodia* et *Fusarium*), des nématodes (*Scutellonema bradys*, *Pratylenchus coffeae* et *Meloidogyne incognita*) et des bactéries (*Erwinia* sp.). Au niveau du feuillage, ce sont les sensibilités à l'anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) et aux virus qui présentent d'importantes contraintes, obligeant bien souvent à un traitement chimique régulier (Martin *et al.*, 1975 ; Quénehervé, 1999 ; Zohouri, 1999).

Les programmes d'amélioration génétique ont désormais pour objectifs les exigences en termes de propriétés organoleptiques qui sont amplifiées par leur importance socioculturelle (Egesi *et al.*, 2003). Afin de faciliter la récolte mais aussi l'épluchage, la forme du tubercule a été également mise en avant. Ainsi, en vue d'une mécanisation de la récolte, des cultivars de *D. alata* comme "Florido" ont été sélectionnés (Martin *et al.*, 1975) et introduit en Côte d'Ivoire dans les années 1970. Bien que la mécanisation n'ait jamais été développée, cette variété est aujourd'hui très répandue et appréciée par les cultivateurs locaux du fait de sa facilité de culture.

Une contrainte importante existe chez ces espèces dioïques : beaucoup de cultivars ne fleurissent pas et les floraisons des mâles et des femelles sont décalées dans le temps (Abraham, 1997 ; Abraham and Nair, 1990). Il a également été montré que la vigueur des hybrides en génération séminale est faible et qu'il convient d'attendre plusieurs cycles de multiplication végétative pour évaluer le rendement et la croissance en générations clonales. Néanmoins, la pollinisation manuelle engendre une impressionnante variabilité des caractères agronomiques, indiquant des opportunités pour l'amélioration génétique (Abraham *et al.*, 1986). Chez les *Dioscorea* spp., le niveau de ploïdie est variable, de $2n=2x=40$ à $2n=6x=120$ (Arnau *et al.*, 2009) et chez les cultivars de grande igname au Vanouatou, ce sont des populations contenant plusieurs niveaux de ploïdie (2x, 3x, 4x) qui sont cultivées (Malapa *et al.*, 2005).

C'est dans les années 50 qu'a commencé l'amélioration par croisements sur *D. trifida* aux Antilles et sur *D. cayenensis-rotundata* en Afrique. Aujourd'hui c'est l'IITA au Nigéria qui mène la lutte contre l'anthracnose, en collaboration avec les SNRA (Systèmes Nationaux de Recherche Agronomique) et d'autres laboratoires universitaires. Après une épidémie, qui toucha le Nigéria en 1993, les efforts se sont concentrés pour développer des programmes d'amélioration incluant systématiquement des cultivars résistants à cette maladie (Abang *et al.*, 2003 ; Mignouna *et al.*,

2003). Aujourd'hui, le CTCRI (en Inde), l'INRA et le CIRAD en Guadeloupe, dirigent des programmes d'amélioration qui incluent aussi la résistance à l'anthracnose.

Les ignames sont des espèces dont le taux de multiplication est faible et la croissance des jeunes pousses est lente. Afin de fournir un outil aux sélectionneurs, les premières études de diversité génétique moléculaire ont commencé par des marqueurs isoenzymatiques en révélant un polymorphisme limité qui ne permettait pas toujours de différencier des cultivars de morphotypes variés (Lebot *et al.*, 1998). Des études utilisant des RFLP n'ont pas non plus donné de résultats satisfaisants. C'est à l'aide d'une stratégie combinant RAPD et AFLP qu'a été révélé un polymorphisme génétique élevé chez les espèces africaines (Mignouna *et al.*, 2003). Dans la collection du Vanouatou, une grande diversité génétique a été observée à l'aide des marqueurs AFLP (Malapa *et al.*, 2005). Des travaux utilisant des marqueurs SSR ont été réalisés et présentent des résultats similaires en termes de diversité génétique (Sardos, 2008a). Les distances génétiques entre les cultivars semblent relativement réduites, malgré une certaine hétérogénéité des géotypes, indiquant une évolution locale probablement enrichie par de la reproduction sexuée.

Les études de diversité permettent d'expliquer la structure génétique des collections, mais elles ne peuvent révéler l'ensemble de la variabilité phénotypique observée. Le phénotypage des compositions chimiques, le chimiotypage, permet une approche de la variabilité des chimiotypes et révèle les caractéristiques directement recherchées par le consommateur.

En ce qui concerne la variabilité des composés majeurs, une synthèse très complète a été réalisée par Trèche (1998). Les teneurs en matière sèche peuvent varier d'un facteur 2,5 entre deux cultivars d'une même espèce. Cependant, les apports énergétiques ne varieraient que peu d'un cultivar à l'autre. Les concentrations en amidon peuvent être très variables, par exemple chez *D. bulbifera* de 57 à 88% de MS. Pour les sucres, certaines espèces comme *D. esculenta* et *D. alata* affichent des variations impressionnantes (3 à 12% MS et 1 à 18% MS). Pour les fibres, c'est encore chez *D. bulbifera* que l'on retrouve la plus grande variabilité (2 à 17% MS). Les teneurs en protéines varient aussi très fortement et on peut d'ailleurs observer, chez *D. bulbifera*, des variations dans un facteur 3,5.

Au Vanouatou, une caractérisation physico-chimique de la collection de grande igname (*D. alata*) indique que la variabilité est plus importante au Vanouatou qu'en Nouvelle-Calédonie, bien que l'effectif étudié soit plus faible. Pour la matière sèche, les coefficients de variation pour ces deux pays sont respectivement de 11,8 et 17,2%, pour l'amidon de 5,6 et 9,1%, pour les minéraux de 11,4 et 15,2%, pour les protéines de 16,8 et 17,8% (Lebot *et al.*, 1998, 2005).

Des variétés amazoniennes de *D. trifida* présentent des amidons cireux (*waxy starches*) qui sont particulièrement intéressants pour l'industrie puisqu'ils présentent de faibles teneurs en amylose (Pérez *et al.*, 2009). Sur les trois cultivars amazoniens étudiés, les teneurs en protéines, minéraux et amidons seraient plus importantes pour celui à chair blanche que celui violet et celui noir ébène. L'inverse est observé pour les hydrates de carbone totaux et donc les fibres. Notons enfin que le stockage post récolte engendre une diminution des teneurs en amidon et une augmentation des sucres totaux et des fibres pour *D. rotundata* et *D. dumetorum* (Trèche and Agbor-Egbe, 1996).

Les programmes commencent à s'intéresser à l'amélioration génétique des chimiotypes de *D. alata* car c'est une espèce qui plait aux producteurs africains en raison de sa facilité de culture. L'IITA a donc mené des études pour cerner la variabilité chimique des variétés et

caractériser leurs aptitudes à préparer un bon *foutou*, un mode de préparation traditionnelle en Afrique. La variété "*Florido*" a connu un réel succès mais son développement est limité par son inaptitude à la préparation d'un bon *foutou* (à partir d'ignames, cuites et pilées). La caractéristique principale qui détermine la texture et les propriétés des amidons est la composition chimique et donc le chimiotype. L'évaluation hédonique de cette préparation indique que la texture serait un caractère plus important que le goût. Les propriétés de cohésion de la pâte formée seraient principalement dépendantes de la composition de l'amidon et plus particulièrement des proportions d'amylose, donc pas directement liées à l'ampleur de la disruption des parois cellulaires (Nindjin *et al.*, 2007).

Notons également que la maturité des cultivars de *D. rotundata* aurait un effet sur les propriétés organoleptiques des tubercules bouillis et préparés en ignames pilées, et que les plus appréciées seraient relevées environ six mois après plantation, juste avant la flétrissure des feuilles. Ces propriétés correspondraient à la perception par le consommateur d'une texture peu farineuse et d'un certain goût pour les tubercules bouillis, et d'une texture tendre et d'une certaine consistance pour les ignames pilées (Akinwande *et al.*, 2007).

Enfin, il convient de noter que les caractérisations des collections de ressources génétiques, à l'IITA par exemple, ne prennent en compte que les descripteurs agromorphologiques d'une accession et non pas sa composition chimique ou son aptitude à être transformée en une préparation culinaire appréciée (Mahalakshmi *et al.*, 2007). Cette surprenante situation semble due à l'absence de méthodologie appropriée.

Les aracées

Elles ne faisaient pas partie des vingt espèces les plus importantes en 2007 (FAO Stat, 2009), mais elles restent cultivées sur près de deux millions d'hectares. Ces chiffres seraient sous-estimés tant ces espèces sont majoritairement produites par et pour les consommateurs locaux. La contrainte majeure liée à la culture du taro est la sensibilité au *Phytophthora colocasiae* induisant la flétrissure des feuilles. Cette maladie a causé des ravages considérables aux Samoa en 1994, où une épidémie a balayé les cultures lorsque le taro était le principal produit d'exportation et source de plus de la moitié des revenus (Brooks, 2000). En plus de la résistance à ce champignon, des hybrides produisant de gros cormes, non déformés par la présence d'inflorescences et surtout riches en amidons sont aussi demandés par le marché. Malheureusement, rendement et qualité semblent négativement corrélés, ce qui constitue une contrainte importante pour l'amélioration génétique. La hauteur des plants ainsi que la surface foliaire semblent de bons indicateurs de forts rendements (Lebot *et al.*, 2006). Une bonne conservation et une bonne adaptabilité à l'environnement de culture (irriguée ou inondée) sont également recherchées. De part leurs faibles exigences en termes d'entretien et leur bonne résistance aux pathogènes, les cultures de macabo (*X. sagittifolium*) et d'alocase (*Alocasia macrorrhiza*) se développent. Ils représentent de très intéressantes cultures de réserve en temps de disette, par exemple consécutives à des cyclones (Bradbury and Holloway, 1988).

Le taro et les aracées comestibles sont très peu étudiés par le système international de recherche agronomique. Il n'existe pas de grand centre chargé de la conservation et de l'amélioration de leurs ressources génétiques. Des programmes existent en Inde, au Samoa occidental, en Papouasie-Nouvelle-Guinée, au Vanouatou et à Hawaï et portent principalement sur la résistance aux pathogènes mais aussi sur la qualité et le rendement.

La variabilité des caractéristiques physico-chimiques des cormes de taro semble importante. L'analyse de 31 cultivars provenant de sept collections nationales du Sud-est Asiatique et d'Océanie révèle une variabilité considérable avec des coefficients de variation des teneurs de 38,8 (12,5 à 55,9% MF) pour la matière sèche, de 14,2 (36,6 à 77,9% MS) pour l'amidon, de 90,9 (0,1 à 2,74% MS) pour le glucose, de 97,6 (0,1 à 2,6% MS) pour le fructose, de 56,7 (0,8 à 8,7% MS) pour le saccharose et de 3,5 (3,7 à 15,8% MS) pour les protéines (Lebot *et al.*, 2004). Dans une autre étude qui a porté sur 22 cultivars de Papouasie-Nouvelle-Guinée, les teneurs en amidon (20,0 à 35,1% MS) et en protéines (0,5 à 2,1% MS) semblent plus faibles, alors que les fibres varient entre 1,4 et 5,4% MS (Wills *et al.*, 1983). Huit cultivars samoans ont été analysés par Aregheore et Perera (2003) et les protéines variaient de 1,1 à 3,5% MS, les fibres de 1,7 à 2,7 et les minéraux de 2,1 à 4,5. Encore une fois donc, une grande variabilité est relevée bien que le nombre de variétés analysées soit relativement faible par rapport à la diversité existante.

Les niveaux de ploïdie sont $2n=2x=28$ ou $2n=3x=42$, selon les cultivars. Des travaux de croisements de tétraploïdes (obtenus par un traitement à la colchicine) avec des diploïdes, dans le but d'obtenir des triploïdes, ont été réalisés en Inde (Sreekumari, 1997). En effet, les triploïdes seraient potentiellement associés à des rendements et des teneurs en matière sèche plus élevés. Mais aujourd'hui, contrairement à de nombreuses espèces, encore aucune corrélation positive entre niveau de ploïdie, rendement et qualité n'a pu être démontrée chez le taro.

Des études ont été menées pour tenter d'introduire une résistance au *Phytophthora colocasiae*. La résistance est associée à divers réactions, comme par exemple la mise en place de systèmes de détoxification cellulaire enzymatique telle que l'activité SOD (superoxyde dismutase) ou GPX (guayacol peroxydase). Chez le taro (*C. esculenta*), une étude met en évidence une activité réduite de ces enzymes chez les génotypes sensibles au *Phytophthora* (Sahoo *et al.*, 2007). Ces résultats définissent des marqueurs biochimiques potentiellement intéressants pour assister la sélection.

Des croisements avec des individus sauvages résistants au *P. colocasiae* ont été réalisés, mais la résistance des hybrides était associée à de très hauts niveaux d'âcreté rendant les hybrides non consommables. Bon nombre d'individus dans les descendance sont en effet moins productifs et non comestibles en comparaison avec les cultivars, ce qui impose de prolonger les cycles de sélection et de faire des rétro-croisements. Il est donc préférable d'initier des améliorations avec, pour point de départ, des cultivars sélectionnés pour leur qualité. Des croisements avec d'autres espèces d'aracées comestibles et résistantes ont été effectués (par exemple *Colocasia gigantea*), mais les résultats se font encore attendre, essentiellement au niveau des propriétés organoleptiques (Ivancic and Lebot, 2000).

A Hawaï, l'amélioration génétique se base essentiellement sur des descripteurs agromorphologiques, le problème majeur étant la sensibilité au *P. colocasiae*. Les programmes d'amélioration ont tenté des croisements entre des cultivars polynésiens adaptés aux préférences locales du Pacifique et des asiatiques ou micronésiens, résistants (Evans, 2009). L'exigence principale des consommateurs hawaïens est l'aptitude du taro à être transformé en un bon *poi*, plat traditionnel hawaïen (pâte fermentée à base de taro). Les hybrides sélectionnés doivent donc correspondre à l'idéotype de la variété commerciale la plus plantée pour la production de *poi*, la "*Maui Lehua*". Mais de nombreux hybrides créés produisaient de nombreux stolons indésirables et des cormes petits et blancs, alors que les préférences locales portent sur de gros cormes

colorés (grisâtre ou violet) (Cho, 2003). Une stratégie basée sur les rétrocroisements a tenté de rétablir les qualités désirées, autorisant ainsi la commercialisation mais elle est lente et lourde à mettre en œuvre. Finalement, certains cultivars résistants et adaptés à la préparation du *poi* ont pu être développés et distribués (Cho *et al.*, 2007). L'amélioration génétique donne donc des résultats intéressants mais nécessite l'évaluation de très nombreux hybrides.

Des études ont impliqué l'utilisation de marqueurs moléculaires. On sait désormais qu'il existe deux pools génétiques distincts, correspondant à deux foyers de domestication différents, l'Asie et l'Océanie (Tanimoto and Matsumoto, 1986 ; Lebot *et al.*, 2004). Ces deux pools présentent des caractéristiques bien différentes. Les bases génétiques en Océanie sont étroites alors que des variations significatives sont relevées en Asie (Irwin *et al.*, 1998 ; Lebot and Aradhya, 1991). La plus grande diversité est observée en Indonésie, qui se trouve en fait au chevauchement des deux pools génétiques (Kreike *et al.*, 2004). A l'image du pool génétique de la région Pacifique, les distances génétiques sont faibles entre les cultivars étudiés au Vanouatou (Noyer *et al.*, 2004 ; Quero-García *et al.*, 2004, 2006 ; Sardos, 2008a). Pour l'amélioration génétique, il est conseillé d'utiliser des cultivars venant des deux pools génétiques (Quero-Garcia *et al.*, 2004). D'une part dans le but d'élargir les bases génétiques et d'autre part afin de tenter de combiner des caractères d'intérêt complémentaires : la résistance au *P. colocasiae* de certains cultivars d'Asie et de très bons rendements et de très bonnes propriétés organoleptiques présentés par les cultivars d'Océanie. Les sélectionneurs doivent donc s'orienter vers l'obtention de produits issus de croisements distants et donc très variables. Enfin, des transformations génétiques ont été tentées récemment et la production de taro transgénique contenant un gène de résistance a été réussie à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens*. Les perspectives semblent prometteuses. Cependant, certains groupes anti-OGM et les populations locales en général, ne seraient pas encore disposées à accepter ce type de technologie pour leur culture ancestrale (Evans, 2009).

L'amélioration génétique du macabo (*Xanthosoma sagittifolium*) est très peu documentée. L'amélioration par croisements contrôlés a débuté dans les années 1970 au Cameroun. En plus de l'amélioration du rendement et de la qualité, c'est la résistance au *Pythium spp.* qui est recherchée. Le macabo est généralement diploïde avec $2n=2x=26$ chromosomes mais des triploïdes et des tétraploïdes existent. Une étude de diversité a été menée sur le macabo et des espèces apparentées (*X. caracu* et *X. violaceum*). Les marqueurs de type RAPD montrent qu'il y a une très faible diversité génétique parmi les quelques cultivars étudiés (Schnell *et al.*, 1999 ; Huang *et al.*, 2004). En ce qui concerne la composition chimique du macabo, l'amidon constituerait environ 60% MS (Graziano, 1992). En une semaine de conservation en milieu tropical, il est observé une diminution des teneurs en amidon et une augmentation des sucres totaux, pour le macabo comme pour le taro (Agbor-Egbe & Rickard, 1990).

Quant à l'alocase (*A. macrorrhiza*), il est sélectionné par les agriculteurs mais n'a jamais à proprement parler bénéficié de programme d'amélioration génétique. Cette plante a fait l'objet d'une étude de diversité pour l'amélioration en tant que plante ornementale, donc pour des caractères morphologiques et non pour des caractéristiques utiles à sa consommation. Son niveau de ploïdie est de $2n=2x=28$ mais des triploïdes existent et les 17 espèces étudiées au moyen de marqueurs AFLP montrent des possibilités d'amélioration par croisements interspécifiques avec d'autres alocases (Chen *et al.*, 2004). Il n'existe que quelques cultivars comestibles au Vanouatou, mais ils sont très appréciés tant au niveau de leur grande rusticité agronomique qu'au niveau de leurs propriétés organoleptiques.

Pour résumer, les chiffres présentés dans ces diverses études proviennent bien souvent de méthodes d'analyses variées et de matériel végétal cultivé dans des conditions environnementales non contrôlées, parfois originaire de pays différents. Ces études montrent donc que de nombreux facteurs sont des sources potentielles de variabilité et qu'il est par conséquent important de mettre en place des dispositifs expérimentaux adaptés pour tenter de les contrôler, de manière à comparer ce qui est comparable. En ce qui concerne les analyses entre espèces ou entre cultivars à l'intérieur d'une même espèce, il est en effet important de s'affranchir au maximum des interactions entre les génotypes et leur milieu de culture, en plantant les accessions en même temps, avec du matériel végétal calibré dans un même environnement homogène, c'est-à-dire au sein d'une même parcelle. Les procédures de récolte doivent, elles aussi, être standardisées et il en va de même pour la préparation des échantillons et des protocoles d'analyses après récolte.

1.3 Les exigences liées aux préparations culinaires

Les procédés utilisés pour la préparation culinaire sont des éléments essentiels puisque ce sont eux qui vont, à partir des compositions chimiques, déterminer la texture du produit. Ce sont donc les transformations qui déterminent la texture et qui vont également être impliquées dans l'élimination des facteurs antinutritionnels. Ces facteurs sont utiles à la plante, mais contraignent les usages alimentaires.

L'élimination des facteurs anti-nutritionnels

Un génotype peut être rejeté s'il présente des facteurs anti-nutritionnels trop importants. Le manioc peut présenter, selon le cultivar et l'environnement, une toxicité attribuée aux composés cyanogéniques les glucosides cyanogènes, les cyanohydrines et les cyanures d'hydrogène libres (acides cyanhydriques). Environ 95% de ces composés seraient constitué par un glucoside cyanogénique, la linamarine. Une consommation régulière de ces molécules mène à de graves problèmes de santé comme la neuropathie tropicale (Osuntokun, 1994) ou le goitre et le crétinisme si elle est associée à de faibles apports en iode (Delange *et al.*, 1994). La première étape, très efficace pour l'élimination de ces composés, consiste à piler ou râper la racine. L'action mécanique assurant une bonne destruction des parois cellulaires permet de mettre en contact la linamarinase (enzyme dégradant les glucosides cyanogéniques) avec son substrat, la linamarine (Oke, 1994). La fermentation avec macération dans l'eau est parmi les modes de préparation les plus efficaces (Montagnac, 2009). Elle permet l'élimination de plus de 90% des composés cyanogéniques totaux (après trois jours) voire jusqu'à 98% en augmentant les durées de fermentation et de macération (Westby and Choo, 1994). Bouillir ou sécher ne permet au mieux qu'une réduction de la moitié des composés cyanogéniques, alors qu'une cuisson à la vapeur, au four ou en friture ne conviendrait que pour les cultivars "doux", à faibles teneurs (Bradbury and Holloway, 1988).

L'association de plusieurs procédés, par exemple le râpage et le séchage en farine permet l'élimination de plus de 96% des composés cyanogéniques. Fermentation et séchage pour préparer le *foufou*, ou encore trempage, fermentation et braisage pour préparer le *gari*, conduisent à une réduction de plus de 98% (Oke, 1994). Les cultivars de manioc du Pacifique présentent généralement de faibles teneurs en composés cyanogéniques (Bradbury and

Holloway, 1988) et une température élevée ($>100^{\circ}\text{C}$) obtenue par la cuisson (bouillie, braisé ou à la vapeur) suffirait à ce que le consommateur ne soit pas gêné par de faibles teneurs. De plus, le seul fait de bouillir la racine en petits morceaux dans beaucoup d'eau permet déjà de diminuer fortement les teneurs de ces composés (Montagnac *et al.*, 2009).

Chez les aracées, le principal facteur anti-nutritionnel est l'âcreté. Les composés majoritairement responsables de ce caractère seraient des teneurs très élevées en cristaux d'oxalate de calcium. La présence de ces cristaux n'expliquerait pas à elle seule le phénomène d'âcreté. Pour le consommateur, elle serait causée d'une part par la blessure physique induite par les cristaux d'oxalate de calcium et d'autre part, le phénomène serait amplifié par l'action irritante de protéases (Bradbury and Nixon, 1998). Un trempage de 24h dans l'eau froide du corme ou une longue cuisson permet de réduire considérablement l'âcreté du taro (Bradbury and Holloway, 1988).

Le taro peut aussi être consommé après avoir subi un processus de fermentation, par exemple impliqué dans la préparation du *poi*, plat traditionnel hawaïen. Il existe des cultivars traditionnellement recommandés pour la préparation de ce plat, qui consiste en une pâte formée à partir de corme bouilli et pilé auquel est ajouté de l'eau afin d'obtenir la texture onctueuse recherchée. Cette préparation est ensuite laissée fermenter quelques jours (1 à 4) pour permettre à la pâte de tourner (de manière analogue au yaourt). La fermentation implique des micro-organismes déjà présents et qui ne sont donc pas inoculés en pré-culture. Ce sont des *Lactobacillus* et *Lactococcus* spp. (en majorité des *Lactococcus lactis*) qui sont responsables de la consistance ressemblant à un genre de galette compacte et onctueuse (Huang *et al.*, 1994). En plus donc de propriétés probiotiques liées aux micro-organismes, la taille des grains d'amidon du taro, parmi les plus fins connus, rendrait cette préparation très facile à digérer. Néanmoins, la fermentation ne serait pas responsable de la majorité de l'élimination des cristaux d'oxalate de calcium et elle serait certainement liée aux lessivages (par la cuisson à l'eau et l'essorage final) et l'action mécanique du pilage (Brown and Valiere, 2004).

D'une manière générale, chez les RT (pomme de terre comprise), les inhibiteurs de protéinases (par exemple trypsine ou chymotrypsine) rendent impropres la consommation des organes de stockage crus. Une simple cuisson permettrait d'inactiver ces inhibiteurs d'enzyme (Bradbury and Holloway, 1988). Il en est de même pour les phytates et les composés phénoliques qui peuvent gêner la digestion et surtout l'absorption de fer et de zinc. Présents chez toutes les plantes supérieures, chez les RT, ils ont surtout été étudiés chez le manioc. La fermentation et le séchage permettraient d'éliminer plus de 85% des phytates et plus de 50% des composés phénoliques (Montagnac *et al.*, 2009).

Une autre stratégie est favorisée pour éliminer ces facteurs et elle réside dans la sélection de cultivars dont les teneurs sont faibles. Au Vanouatou, les préparations culinaires sont relativement peu nombreuses et c'est le *laplap* qui domine. Si la préparation traditionnelle ou quotidienne (bouillie ou braisée) ne permet pas d'éliminer les facteurs anti-nutritifs, le génotype n'est pas conservé. Au Vanouatou, la diversité est telle que tout génotype inadapté aux préférences locales peut être éliminé sans crainte de perdre un potentiel. Les cultivars de taro du Pacifique sont peu âcres. Certains ont avancé l'hypothèse que cela serait lié au processus de sélection traditionnel qui écarterait directement les génotypes présentant ce genre de caractères (Bradbury and Holloway, 1988). Cependant, il s'avèrerait aussi que certaines conditions pédoclimatiques favorables, comme aux Samoa, pourraient diminuer l'accumulation de raphides

d'oxalate de calcium, supposées responsables au moins en partie de l'âcreté (Sakai, 1979). De manière similaire, dans certains villages l'alocase n'est pas consommé, tellement le nombre de génotypes peu âcres est faible. Le même raisonnement peut être appliqué au manioc dont la sélection a pu être encore plus drastique de part l'importance socioculturelle secondaire de cette espèce au Vanouatou.



Figure 7 : Préparation du *laplap* taro, plat traditionnel au Vanouatou. Le corme est épluché (A) et râpé (B). La pâte formée est mélangée à du lait de coco (C) puis enfermée dans des feuilles d'*Heliconia indica* (D) pour former un paquet (E). Celui-ci est déposé sur les braises puis recouvert de pierres brûlantes (F) et de feuilles (G) constituant le four mélanésien traditionnel. Le laplap retiré du feu (H-I) ressemble à un genre de pudding.

Pour résumer, tous ces facteurs anti-nutritionnels sont impliqués dans divers mécanismes physiologiques de défense. Ils entravent parfois la sélection des RT, lors des croisements avec les génotypes sauvages, souvent plus riches et plus robustes d'un point de vue agronomique, mais ne posent pas de problème majeur dans le Pacifique Sud. En milieu traditionnel, la potentielle toxicité de nouveaux génotypes, avant d'être testés en cuisine par les femmes qui sont souvent les plus critiques, est évaluée au champ par le cultivateur en mettant la chair crue du corme, du tubercule ou de la racine sur la langue. La détection d'une amertume permet souvent l'élimination de chimiotypes indésirables.

Les caractéristiques recherchées par le consommateur

L'appétence d'un aliment est un équilibre subtil entre sa texture et son goût. Dans l'optique d'identifier les déterminants des préférences locales, des tests hédoniques doivent être réalisés afin de tenter de comprendre ce qui rend un aliment "bon".

C'est sur le continent africain que les préparations culinaires ont été les plus étudiées, surtout en ce qui concerne les déterminants des propriétés d'un bon *foutou* (pâte formée à partir des tubercules bouillis puis pilés) ou *foufou*. Ces préparations exigeraient des propriétés texturales particulières, pouvant même être considérées comme le facteur limitant le plus important pour l'acceptation d'une variété. Par exemple, pour les caractéristiques préférées par les nigériens au niveau des propriétés organoleptiques des cultivars de grande igname (*D. alata*), on note pour les tubercules bouillis qu'une texture granuleuse est préférée de très loin devant la couleur et, enfin, le goût. Ceci montre donc que le goût, essentiellement déterminé par les composés volatiles, n'influe qu'indirectement sur la définition d'un bon cultivar d'igname à bouillir. Par contre, les caractéristiques corrélées à un "bon" *foutou* sont la fermeté, l'élasticité, la facilité à prendre consistance (malléabilité) et sa capacité à la conserver et enfin, le fait d'être moelleux (Onayemi, 1985). Sur un échantillonnage de 40 cultivars, Egesi *et al.* (2003) montrent que la caractéristique la plus importante d'un *foutou* est la malléabilité, puis viennent une couleur claire et une texture collante qui sont également importantes.

Une étude plus récente montre que c'est encore la texture qui est la mieux corrélée avec les préférences et en particulier une texture élastique, grumeleuse et malléable. Les caractéristiques « peu friable » et « grisâtre » arrivent ensuite, puis finalement le « fibreux », le « non imbibé » (contrairement à une purée) et le caractère « doux » (Nindjin *et al.*, 2007). Un *foutou* préparé à base de cultivars de *D. cayenensis-rotundata* présente des qualités texturales correspondant parfaitement aux préférences locales, alors qu'un *foutou* à base de *D. alata* serait trop grumeleux. Les cultivars de *D. rotundata* confèreraient aux préparations une texture assez molle, souple, cohésive et tendre (Otegbayo *et al.*, 2006). Cette évaluation, basée sur des tests hédoniques réalisés par des consommateurs traditionnels, est également possible à partir d'instruments de mesure de la texture (Otegbayo *et al.*, 2007). Les différences de fermeté seraient liées à l'ampleur des phénomènes de disruption des parois cellulaires. En conséquence, une bonne conservation de la structure cellulaire serait observée chez *D. cayenensis-rotundata* alors que chez *D. alata* les parois seraient décomposées, engendrant une diminution de la fermeté (Brunnschweiler *et al.*, 2006).

Il convient néanmoins de noter les similitudes entre la préparation du *laplap* et celle du *foutou*. Le *laplap*, plat national au Vanouatou, est considéré comme "bon" par la majorité des consommateurs quand il est assez épais, élastique et collant, et il existe de ce fait des variétés

locales reconnues par les consommateurs locaux comme unanimement "bonnes" pour la préparation du *laplap* (Figure 7). Une grande partie des variétés d'igname, taro, macabo et manioc peuvent être utilisées alors que les patates douces demandent une modification de la préparation tant la texture de leur racine est particulière. Ceci fait partie intégrante des savoirs traditionnels transmis de génération en génération. Mais puisqu'ils relèvent de connaissances empiriques, les bases théoriques nécessaires à la compréhension et à la définition précises d'idéotypes pour l'amélioration, font donc défaut.

Aux Etats-Unis, les préférences moyennes des consommateurs de patates douces ont été très bien définies. Le cultivar "*Jewel*" sert de référence et les nouveaux cultivars doivent au minimum présenter les mêmes qualités que lui. En général, les consommateurs recherchent des cultivars présentant la capacité à faire de bonnes frites, chips ou tartes. Par exemple, les amidons montrant une faible viscosité engendrent une texture de purée inadaptée aux préférences locales, en particulier pour la confection de tartes à la patate douce (Collins *et al.*, 1995 ; Silva *et al.*, 1989).

Les composantes de la texture et leur évaluation

La formation de la texture est décrite dans le vocabulaire par des termes correspondants à des caractères hédoniques, qui sont donc liés à perceptions sensorielles communes. Les nuances utilisées dans le langage sont relatives à des références socioculturelles. Ces termes sont parfois très difficiles à définir, surtout lorsqu'il s'agit de passer par une traduction. Les définitions des termes se chevauchent souvent et ne peuvent pas être considérés uniquement de manière individuelle. Les descriptions constituent un ensemble de caractères. Par exemple, une texture peut être élastique, ferme, collante et granuleuse à la fois. Ceci rend difficile la compréhension des caractères importants pour la définition d'une texture appréciée. Dans toute étude basée sur les dires des consommateurs, il convient également de mettre au point des validations croisées des tests en aveugle. A partir de ces descriptions et tentatives de définition d'une propriété de texture appréciée, il convient enfin d'essayer de comprendre à quoi correspondent exactement les termes employés.

En fait, à l'instar de l'amidon exploité industriellement, la texture devrait être considérée comme une série de caractéristiques fonctionnelles adaptées à une application particulière. De nombreux facteurs physico-chimiques contribuent à la formation de la texture. Ils peuvent être observés à deux niveaux étroitement liés :

- les caractères physico-chimiques, liés aux propriétés structurales des cellules végétales que l'on retrouve dans les préparations : la taille de ces cellules, la rigidité des parois cellulaires, la proportion de destruction de ces parois et la capacité d'adhésion des cellules restées intactes.
- les caractères physico-chimiques, liés à la composition chimique à proprement parler, principalement des amidons. Divers composés, comme par exemple les acides aminés, peuvent également interférer.

Les procédés de préparation culinaire employés, à partir de ces caractères physico-chimiques vont également être impliqués dans la formation de la texture (Burton, 1989).

Des outils et appareillages sont disponibles pour la mesure de certaines composantes de cette texture, tant au niveau physique qu'au niveau chimique. Nous ne listerons pas ici les appareillages et méthodes utilisables pour déterminer ces composantes, très nombreuses.

Quelques études sur les propriétés physico-chimiques des grains d'amidon de ces plantes ont également été menées. Les caractéristiques qui découlent directement de la dimension et la répartition de ces grains sont importantes pour des applications bien précises. La gamme des propriétés fonctionnelles particulières des amidons exigées par l'industrie alimentaire est quasi illimitée. Par exemple, la petite dimension des grains les rend très adaptés à l'encollage du linge fin et aux produits cosmétiques pour la peau. On considère généralement que les propriétés de l'amidon sont fonction du ratio amylose/amylopectine. Les deux polymères ont des structures bien différentes (l'amylose est linéaire et l'amylopectine très ramifiée) qui influent sur la viscosité, la résistance au cisaillement, la gélatinisation, la solubilité, le pouvoir adhésif, la stabilité du gel, le gonflement au froid, la rétrogradation et la texture (Satin, 1998).

Pour les ignames, la composition propre au génotype utilisé, détermine l'organisation structurale des grains et les teneurs en amidon qui sont autant de facteurs qui influencent ses propriétés fonctionnelles (Amani *et al.*, 2004).

La présence ou l'absence de certains acides aminés chargés (positivement ou négativement) jouent sur les propriétés fonctionnelles de l'amidon de la patate douce (Lockwood *et al.*, 2008). Il serait préférable d'utiliser des variétés à chair blanche, quand un taux de gélatinisation important est nécessaire (Osundahunsi *et al.*, 2003).

Aucun autre ingrédient ne donne une texture à autant d'aliments que l'amidon. Les textures diffèrent cependant en fonction de l'espèce, du cultivar mais aussi de la préparation employée. Les études aident à la définition des idéotypes visés par les améliorateurs mais portent bien souvent sur l'amidon extrait de sa matrice végétale. Il convient de noter que ces caractéristiques ne sont accessibles qu'après un travail très fastidieux d'évaluation, souvent mené à partir de produits ou de variétés diverses. Ceci est intéressant mais rend les comparaisons difficiles et peu fiables, donc particulièrement inadaptées à l'amélioration génétique. De plus, les études portant sur les propriétés des amidons et des farines sont très souvent réalisées pour l'industrie et donc les préparations traditionnelles sont relativement peu étudiées.

Néanmoins, pour les marchés locaux, le meilleur des juges pour l'évaluation globale des textures reste le consommateur.

2. Mise en évidence d'opportunités pour l'amélioration

L'étude de la variabilité des teneurs en composés majeurs paraît essentielle pour améliorer la rapidité et l'efficacité du développement de nouvelles variétés. Les enjeux pour les populations locales sont multiples et notre l'article publié dans le *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ([DOI:10.1021/jf903321e](https://doi.org/10.1021/jf903321e)) tente d'apporter des éléments de compréhension du processus de sélection traditionnel à travers l'étude de la variabilité des chimiotypes de RT au Vanouatou.

Les principaux objectifs de cette étude sont de fournir des bases d'informations pour assister l'amélioration génétique en accord avec les préférences locales, ainsi que pour la compréhension des stratégies de sélection traditionnelle qui ont mené à la diversité observée aujourd'hui.

Chemotype Profiling To Guide Breeders and Explore Traditional Selection of Tropical Root Crops in Vanuatu, South Pacific

ANTOINE CHAMPAGNE,^{*,†,‡} LAURENT LEGENDRE,^{†,‡} AND VINCENT LEBOT[§]

[†]Université de Lyon, F-69003 Lyon, France, [‡]Université de Saint-Etienne, BVpam, EA3061, 23 rue Dr Paul Michelon, F-42000 Saint-Etienne, France, and [§]CIRAD UR 75, P.O. Box 946, Port-Vila, Vanuatu, South Pacific

The objectives of the present study were to characterize good-quality cultivars, identify relationships between local eating preferences and primary compound content, and reveal biofortification potential in tropical root crop species aroids, yams, cassava, and sweet potato. A core sample of about 500 cultivars was assembled to represent the widest agro-morphological diversity. Very high coefficients of variation were found within species for proteins, sugars, cellulose, and mineral contents, whereas starch exhibited the lowest variation. Starch content was negatively correlated with other primary compound contents. For the national dish in Vanuatu, consumers prefer cultivars with high starch content. In contrast, preferences for daily consumption of boiled or roasted tubers are linked to average starch content, indicating great potential for improving primary compounds. Interestingly, relationships between flesh color and requirements for the traditional dish were revealed, suggesting opportunities for biofortification. The data produced will assist breeders in adopting appropriate biofortification strategies.

KEYWORDS: Aroids; biofortification; cassava; primary compounds; flesh color; sweet potato; yam

INTRODUCTION

In Vanuatu, Melanesia, tropical root crops (aroids, cassava, sweet potato, and yams) are staple foods. Traditional agroforestry systems host other starchy crops such as bananas, plantains (*Musa* sp. L.), and breadfruit (*Artocarpus altilis* L.). Several methods are used to process and cook these foods, including boiling, roasting, and baking on hot stones. In Vanuatu, unlike in other Melanesian and Pacific countries, these starchy foods are processed into traditional *laplap*, which is a pudding-like dish prepared from hand-grated fruits, corms, roots, or tubers. The raw paste is wrapped in *Heliconia indica* leaves (commonly named *lif laplap* in local Pidgin English) and slowly steamed in a ground oven. Although *laplap* is by far the most common preparation, there are variants such as *bougna*, for which rough pieces are cooked in a ground oven, and *natot*, for which cooked pieces are pounded to form a sticky paste similar to West African *fufu*. Each of these food preparation methods requires the raw plant material to exhibit specific physicochemical properties, and this is possible thanks to the extraordinary diversity in species and varieties. Producers and consumers alike are unanimous in their appreciation of the potential of specific cultivars for *laplap* or other traditional dishes. However, the chemical bases for such appreciations are unknown, as are traditional means of chemotype selection. This lack of basic knowledge hinders the launching of biofortification programs with appropriate parental clones.

*Corresponding author (telephone +33 557 122 579; fax +33 557 122 541; e-mail champagne_antoine@hotmail.com).

Most root crop species have been cultivated since ancient times, and their early domestication was followed by constant selection to improve nutritional quality and to subtract some of the wild genetic load often associated with antinutritional factors, such as alkaloids and polyphenols in yams, calcium oxalate and acidity in aroids, and cyanide in cassava. Because these species share common biological traits and are cultivated together in traditional agrosystems, their traditional selection process followed the same steps. We can therefore propose the hypothesis that if all of these species are currently processed into *laplap*, their selection processes were probably biased toward retaining only chemotypes suitable for *laplap*. Because genotypic diversity is regarded as too broad for vegetatively propagated crops, it is assumed that sexual propagation took place during the traditional selection process. Evidence that local farmers sometimes practice unconscious selection on volunteer seedlings has already been reported (1, 2). This kind of traditional practice was most likely used in selecting cultivars for suitable preparation of *laplap*.

With the population doubling every 25 years in Vanuatu, population growth and urban drift are responsible for significant urban development, which also raises food security issues. Improving the nutritional value of the staples through breeding is thus a priority. There is also a need to speed the preparation process of *laplap* so that the demand of urban populations can be satisfied with modern quality products. An excellent *laplap* can be directly prepared from easy-to-store and ready-to-use finely ground complete flours, which, when mixed with water, are used to prepare a paste wrapped in *lif laplap* (*H. indica* leaves) and

cooked in a casserole dish (3). Flours made from root crops have a longer shelf life, and their transport is cheaper than that of fresh products.

Crop improvement and breeding strategies depend on the existence of genetic variation for the targeted traits. Molecular markers have been developed to estimate the genetic diversity of some germplasm collections of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) and cassava (*Manihot esculenta* Crantz) (4, 5). However, no genetic marker is known to be linked to crop quality and, in Vanuatu, taro (*Colocasia esculenta* Schott) and the greater yam (*Dioscorea alata* L.) are the most widely consumed crops. Another relevant experimental approach is to characterize variations in chemotypes as they are the most important traits that parents should present, especially for breeding programs aimed at improving quality. As parents and hybrids are selected on their per se value, characterization of chemical content plays a key role in breeding programs. To increase the occurrence of outstanding hybrids, choosing parents with the most valuable traits is crucial. The most comprehensive study that provided an overview of chemical composition of tropical root crop species was conducted in the Pacific (6). A similar work on yam species was carried out (7) in Africa. However, these studies dealt with cultivars from different geographic origins grown in very different places, making comparisons somewhat difficult.

The aims of the present study were to (i) characterize chemotype variations between and within root crop species, (ii) identify relationships among primary compounds and between primary compound content and flesh color, (iii) define consumer preferences for a good quality *laplap*, and (iv) produce relevant data to assist breeders during the selection of parents and progenies.

MATERIALS AND METHODS

Germplasm and Growing Conditions. All accessions were grown in the same field at VARTC (the Vanuatu Agricultural Research and Technical Centre, Espiritu Santo, 15° 23' S and 166° 51' E) to minimize variations due to environmental factors. They were grown at the same time (one season), and their storage organs were harvested when fully mature to limit differences due to ontogeny. Except for this special care, no particular experimental design was used to grow the accessions, and this was possibly a slight source of error. Germplasm mainly originated from Vanuatu but also included cultivars from various Southeast Asian countries and hybrids produced for breeding purposes.

Cultivars. Traditional knowledge of local accessions was recorded during interviews with farmers. Blind panel tests were conducted in a previous study to assess eating quality according to traditional preferences and knowledge (3). The results were recorded in the germplasm database. To reinforce this assessment, accessions have been evaluated in VARTC every year since 1998, and taste ratings have also been recorded.

Sampling Strategy and Preparation. Throughout this paper, "cultivars" refers to varieties that are commonly grown and consumed, whereas "hybrids" are new varieties still under evaluation. A core sample was assembled to cover the broadest range of agro-morphological variation and geographical origins. The core sample contained 11 different species, including *C. esculenta* (111 accessions, including 66 cultivars and 45 hybrids obtained by polycross), *Xanthosoma sagittifolium* (9 accessions), *D. alata* (93 accessions), *Dioscorea cayenensis-rotundata* (7 accessions), *Dioscorea esculenta* (13 accessions), *Dioscorea nummularia* (4 accessions), *Dioscorea transversa* (9 accessions), *Dioscorea pentaphylla* (3 accessions), *Dioscorea bulbifera* (6 accessions), unidentified *Dioscorea* (3 accessions), *M. esculenta* (63 accessions), and *I. batatas* (183 accessions, including 37 cultivars and 146 hybrids obtained by polycross). The complete edible part of underground storage organs (one or two depending on accession availability and yield) from a single plant of 505 accessions was peeled, washed, dried with a clean towel, hand-grated, and dried in a ventilated oven at 60 °C until constant weight. The dried powders were then placed in paper bags and stored in a dry place until analysis.

Table 1. Number of Local Cultivars Rated for *Laplap* Preparation

species	cultivars	good	average	poor
<i>Colocasia esculenta</i>	45	27	2	0
<i>Xanthosoma sagittifolium</i>	9	9	0	0
<i>Dioscorea alata</i>	77	5	3	3
<i>D. cayenensis-rotundata</i>	7	7	0	0
<i>D. bulbifera</i>	6	0	0	6
<i>D. esculenta</i>	14	0	0	14
<i>D. nummularia</i>	4	4	0	0
<i>D. pentaphylla</i>	3	0	0	1
<i>D. transversa</i>	9	9	0	0
<i>Dioscorea</i> spp.	3	3	0	0
<i>Ipomoea batatas</i>	37	0	0	37
<i>Manihot esculenta</i>	63	63	0	0
total	277	127	5	61

Chemical Analysis. Analyses of primary compounds were performed according to AFNOR (French standards association) and/or CEE protocols (8). Samples of about 150 g of dry matter prepared in VARTC (Vanuatu) were sent to France, where residual moisture, starch, sugars, proteins, minerals and cellulose were quantified. Following NF (Norme Française) V 18-109 for dry matter determination (8), samples of powder were dried again in an air oven to remove residual moisture and then analyzed on a dry matter basis. Mineral contents (8) were estimated from ash produced at 550 °C (NF V 18-101). Crude cellulose (8) was measured using Weende's method (NF V 03-040) of quantification of non-water-soluble organic residue after sulfuric acid and alkaline treatments. Protein content (8) was measured using the Kjeldahl method (NF V 18-100) of quantification of total nitrogen ($N \times 6.25$). After starch extraction, reducing sugars were estimated using the standard iodometric method of Luff-Schoorl (CEE 98/54/CE). Starch (8) was quantified using the Ewers protocol (NF ISO 10-520) based on the hydrolysis in HCl, filtration, and polarimetric measurement. All measurements are expressed in percentages of dry matter (DM).

Color Assessment. A color code ranging from 1 to 7 was attributed to each storage organ at harvest. Colors were assessed visually. The flesh color observed at the central portion of the organ (corn, cormels, roots, and/or tubers) was coded as follows: 1 = white, 2 = yellow, 3 = orange, 4 = pink, 5 = red, 6 = reddish, 7 = purple, and 8 = multicolored (e.g., yellow-purple two-colored).

Data Analyses. A database was created containing the primary compound contents, morphological description, traditional uses, and eating quality indices for each cultivar. To increase the reliability of the results, data on similar species were pooled. Consequently, aroids include *C. esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium* accessions, and yams include all *Dioscorea* species. For statistical analyses, coefficients of variation (CV) of the mean were calculated to provide a normalized estimate of the dispersion of a probability distribution (expressed as a percentage). Principal component analysis (PCA) and linear correlations were performed with the free open source software environment for data analysis and graphics, R version v2.9.0 (9) and the "RcmdrPlugin.FactoMineR" and "ade4TkGUI" packages with mean-centered data scaled to unit variance. Relationships between primary compounds, visually determined flesh color codes, and quality were estimated by calculating Pearson's product-moment correlations. Significance was determined using Student's *t* test.

RESULTS AND DISCUSSION

Traditional Knowledge. According to farmers and consumers, some traditional cultivars are suitable for *laplap* preparation, whereas others are not. Table 1 lists the local cultivars (excluding introduced varieties and hybrids) that are considered to be good, average, or poor for *laplap*. The statements are based on hedonic tests related to food organoleptic properties (3). All cultivars of *D. bulbifera*, *D. esculenta*, and *I. batatas* are considered to be "poor" sources for *laplap*. As a result, these species are never used to prepare the Vanuatu national dish. Although farmers and

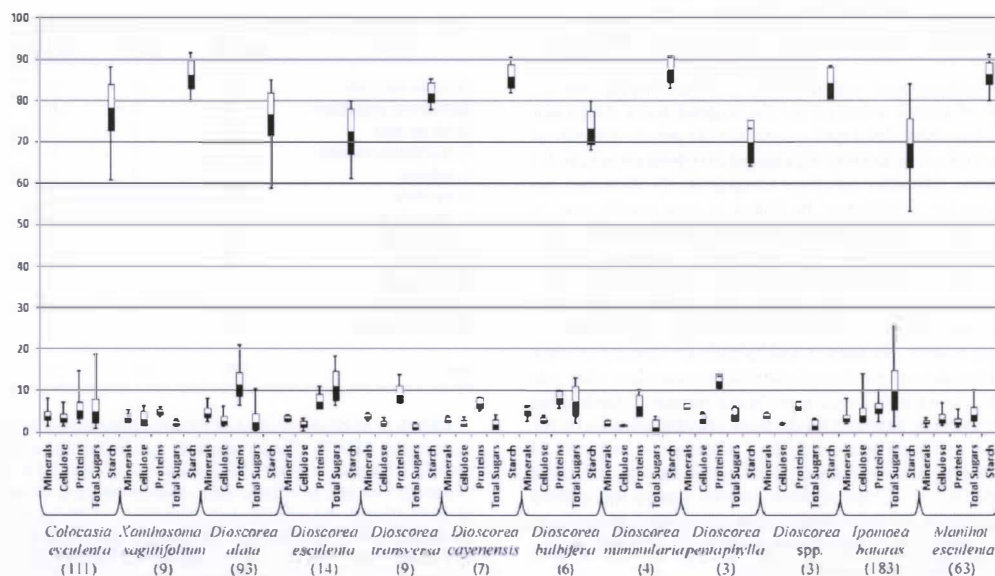


Figure 1. Variation in primary compounds represented by the minimum–maximum intervals and expressed as percentages of dry matter (vertical lines). The box represents the standard deviation around the mean, the upper limit (white area), and the lower limit (black). Below the species names is the core sample size.

consumers unanimously agree the species are not suitable, they cannot explain why.

The two species with the most ancient cultivation history in Vanuatu are *C. esculenta* and *D. alata*. They were introduced by the first settlers ca. 3000 BP and are also the two most prestigious species with the greatest number of different cultivars. Significant genetic variation has been documented (1, 10–13), and variation exists for quality. Previous studies already reported local organoleptic preferences for *laplap* and showed how they differ from species used for other cooking methods (3). This kind of home-made pudding requires firmness and elasticity to produce a texture that is considered by every consumer to be excellent.

Interspecific Variation of Primary Compounds. Starch. The highest starch contents were found in *M. esculenta* and *X. sagittifolium*, with 91.2 and 91.5% of DM, respectively (Figure 1), and the lowest maxima were found in the yam species, *D. esculenta*, *D. bulbifera*, and *D. pentaphylla*. Among yam species, *D. nummularia* and *D. cayenensis-rotundata* showed the highest values, which were far above the others. *I. batatas* displayed the lowest minimum starch content with only 53.3% of DM, whereas *D. cayenensis-rotundata* and *D. nummularia* showed the highest minimum. Regarding the minimum–maximum (min–max) intervals for starch (Figure 1), a wide range was observed among *I. batatas*, taro, and *D. alata*, with correspondingly high standard deviations (SD) of 5.9, 5.6, and 5.2, respectively. The lowest min–max intervals were observed in *D. nummularia* and *D. transversa*. This is probably linked to the small sample size and limited genetic diversity of these two species. These values are similar to those found in 98 accessions from Cameroon (representing 8 yam species), except for *D. cayenensis-rotundata* and *D. esculenta* (14), the starch contents of which were lower than ours. Lower starch contents were found in 65 *Dioscorea* spp. accessions from southern Ethiopia (15). Nigerian *D. alata* accessions from the IITA (International Institute for Tropical Agriculture) yam breeding program were also reported to display lower maximum DM (74.4%) (16).

Sugars. The highest amounts of total reducing sugars were found in *I. batatas*, with 25.3% of DM, whereas the lowest maximum contents were found in *Dioscorea* spp. and *D. transversa*. As expected, *D. esculenta*, also called “sweet yam”, had the highest maximum sugar content among yam species. The lowest minimum contents were observed in *D. alata* and *D. nummularia* and the highest in *D. bulbifera*, *D. pentaphylla*, and, not surprisingly, *D. esculenta*. Thus, *D. bulbifera* and *D. esculenta* accessions differed greatly with respective standard deviations of 3.7 and 3.6. In *D. transversa* and *X. sagittifolium*, sugars varied only slightly, perhaps due to sampling size. In taro accessions from Vanuatu, variations were extremely high, with values ranging from 0.9 to 18.6% of DM; however, the SD was only 2.9. Some African accessions (7) exhibited maximum contents that were almost half of ours. Our *D. alata* accessions showed a remarkable maximum sugar content, twice as high as that observed previously (11), but equivalent to values observed in Nigerian accessions (16). However, the 48 accessions in the core sample previously studied (11) were selected to represent the range of variation for eating quality, among other traits. Previous surveys (14) also reported maximum sugar contents in *D. bulbifera* and *D. esculenta* that were clearly lower than those observed in the present study. Previously reported maximum sugar contents (17) were almost twice as high as those observed in Vanuatu.

Proteins. The highest total protein content (21.0% of DM) was found in a *D. alata* accession and was about 3 times higher than any other *Dioscoreaceae*. The lowest contents were also found in an accession of this species with 6.5% of DM. Taro had a high maximum (14.8% of DM), whereas *M. esculenta* and *X. sagittifolium* had the lowest protein maximum contents, 5.6 and 6.2% of DM, respectively. These findings agree with observed SD. Indeed, *D. alata* showed a relatively high SD of 2.9, whereas *M. esculenta* and *X. sagittifolium* showed the lowest SD values of 0.8 and 0.7. The highest minimum contents were found in yam species, especially in *D. pentaphylla*, *D. transversa*, and *D. alata*, and the lowest were found in *M. esculenta* and taro

(Figure 1). In terms of variation illustrated by the min–max interval (Figure 1), extensive ranges were observed for the two most widely consumed species in Vanuatu, *D. alata* and *C. esculenta*. Previously reported protein contents of seven *D. alata* accessions in Ivory Coast (18) showed maximum contents well below ours. Similarly, in 131 *D. alata* accessions from New Caledonia (19), maximum contents were twice lower than ours. However, these authors sun-dried their samples, which could explain their low values. Also, low maximum contents (8.7%) were previously reported for our accessions (14). Our data indicate that Samoan taro (20) contains less protein than Vanuatu's. Previous study on several hundred accessions of *I. batatas* (21) found maximum protein contents similar to ours (10.1% of DM). Work on *M. esculenta* previously suggested the existence of significant genetic variation in protein content (17). Variation in crude protein content reached the highest level ever recorded in a cultivar from Colombia, with 6.42% of DM, and the lowest level in an accession from Thailand, with 0.95% of DM (22). The min–max range of 1.3–5.6% of DM observed in our cultivars from the VARTC collection was equivalent.

Minerals. Highest maximum total mineral contents were found in *I. batatas*, taro, and *D. alata*, with about 8.2% of DM. The highest variation (min–max interval) paralleled these high maxima. *M. esculenta* and *D. nummularia* showed the lowest maximum contents, 1.2 and 1.6% of DM, respectively, and these two species also showed the lowest minimum contents. The highest SD was found in *D. alata* and the lowest in *M. esculenta*. Our 111 taro accessions (Figure 1) showed a maximum mineral content of 8.1% versus 6.0% (10) or 4.4% (20) in previous studies. *D. alata* accession maximum contents were reported as almost half below ours (16). Varieties studied in Ivory Coast were found to have maximum contents well below ours (18). Similarly, in 131 *D. alata* from New Caledonia (19) were described maximum contents twice as low as ours. Differences in cultivars may explain these differences.

Cellulose. Maximum cellulose contents were found for *I. batatas* (14.0% of DM), far above those of species such as *C. esculenta* (7.3% of DM). The lowest maximum contents were found in yam *D. nummularia*, *Dioscorea* spp., and *D. esculenta*, with 1.4, 1.8, and 0.1% of DM, respectively. Similar trends were observed for minimum cellulose contents, the highest minimum contents being recorded in *I. batatas* and the lowest in *D. nummularia* and *D. esculenta*. Again, *D. alata* had the highest cellulose fiber contents, up to 3 times higher than those of other *Dioscorea* species.

Dry Matter. Dry matter in *I. batatas* was in the upper range of previously reported values (21). A survey conducted on 2500 *M. esculenta* accessions from the CIAT international collection (17) reported an average dry matter content (34.3%) that is slightly higher than ours (33.2% of fresh matter).

Intraspecific Variation of Primary Compounds. **Yams.** Average starch content was the highest in *D. nummularia* (87.7% of DM). Other yam species, *D. cayenensis-rotundata*, *Dioscorea* spp., and *D. transversa*, had high-range means and *D. bulbifera*, *D. esculenta*, and *D. pentaphylla* had low-range means. *D. alata* displayed a midrange mean value of 76.7% of DM for starch content. An extensive range of variation was found in *D. nummularia* and *D. alata* reducing sugar contents, with exceptional CVs of 115.5 and 76.1%, respectively. Moreover, species with low starch content appeared to have high sugar contents. With regard to proteins, *D. pentaphylla* and *D. alata*

exhibited the highest means. The highest CVs were found in *D. nummularia* and *D. alata*, most likely reflecting their genetic diversity.

Aroids. Significant differences in starch contents were observed in *C. esculenta*, the CV of which was among the highest of all genera studied. This suggests major genetic variation in the genetic control of synthesis of primary compounds in our sample. Protein contents varied considerably from 0.9 to 18.6% of DM with a CV of 57.9%. *X. sagittifolium* is another aroid crop that is widely used for the preparation of *laplap*. It exhibited relatively low CVs for most primary compounds we measured, thus indicating a narrow genetic base in Vanuatu. Low CVs were obtained for starch, total sugar, and protein contents, and high CVs were obtained for minerals and cellulose. Major opportunities thus exist for biofortification of mineral content.

Manihot esculenta. Although the mean starch content was high (86.5% of DM), the corresponding CV was very low. For total sugar content, midrange values with high CVs were observed. Mean protein content was low, with high CV (31.5%). In terms of variation in mineral contents, both the mean and the CV were low, thus indicating a limitation for biofortification of *M. esculenta* in Vanuatu. Inversely, cellulose content displayed a high mean and a high CV.

Ipomoea batatas. Average starch content was the lowest among the genera we studied even though its corresponding CV was the highest, in agreement with the great morphological and genetic variability of this accessions in our collection. Total sugar contents had a very high mean and a high CV, 10.2% and 46.7% of DM, respectively. Protein content was among the lowest, and its corresponding CV was in the lower range.

Interspecific and intraspecific variations in Vanuatu are comparable to those observed in previous studies. This is particularly true for the two most widely consumed species (*C. esculenta* and *D. alata*), which show high CVs for most compounds (10, 11, 19). Broad genetic bases are reflected in the chemical expression of genotypes. There is thus potential for biofortification.

Relationships between Chemotype and Quality. All species known to be a good source of cultivars for *laplap* (*M. esculenta*, *X. sagittifolium*, *D. cayenensis-rotundata*, *D. nummularia*, and *D. transversa*) had high starch and low sugar contents. However, in Vanuatu, these four species are not represented by many cultivars. The African Guinea yam (*D. cayenensis-rotundata*) and the American cocoyam (*X. sagittifolium*) were introduced at the beginning of the 20th century, and only a few cultivars are grown, but they are all known to produce good *laplap*. Likewise, the two Melanesian yam species (*D. nummularia* and *D. transversa*) are considered to be the most suitable for the production of *laplap* and, as a matter of fact, this is the only way these species can be prepared. Starch contents of *C. esculenta* and *Dioscorea* spp. were shown to be negatively correlated with total sugar, protein, mineral, and cellulose contents (data not shown). Thus, a good *laplap* should be made with varieties with high dry matter and starch contents and low protein, mineral, and total sugar contents. This was confirmed by the analysis of species chemotypes (Table 2). Sorting species by increasing starch content confirmed their evaluation as "good" or "poor" species. *C. esculenta* and *D. alata* accessions were grouped at the borderline between the two classes, in agreement with local uses. On the other hand, species that are unsuitable for *laplap* (*D. bulbifera*, *D. esculenta*, *I. batatas*) showed low starch and high sugar contents. These results provide a rational, chemical-based definition of what is a "good" species chemotype for *laplap*.

PCA was performed on a data set obtained on 293 accessions using their 5 primary compound contents and their ratings for *laplap* preparation as variables (Figure 2). It distinguished

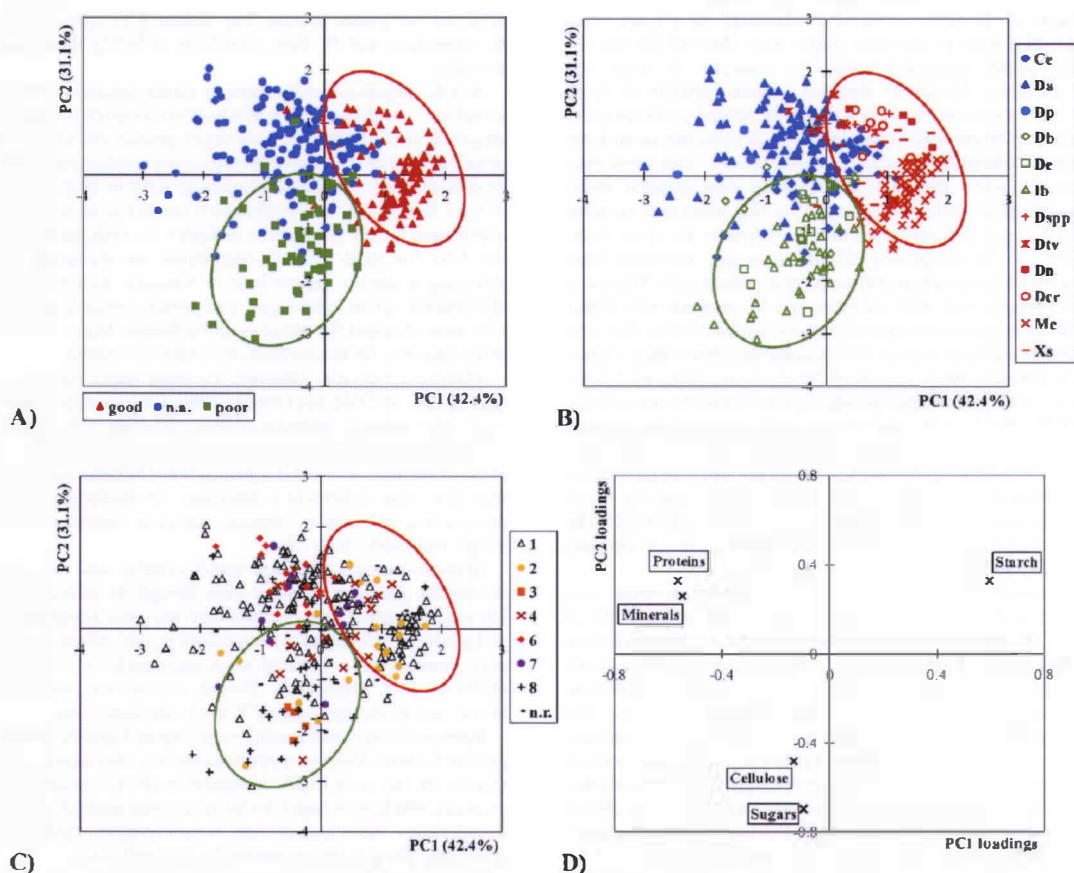


Figure 2. Principal component analysis of 5 primary compounds from 293 local accessions rated for preferences according to local consumers: score plot featured with quality for *laplap* preparation (A), score plot featured by species (B), score plot featured by color assessment (C) and loadings plot (D). Mean-centered data scaled to unit variance were used for PCA. n.a., not available. Species: *C. esculenta* (Ce), *D. alata* (Da), *D. pentaphylla* (Dp), *D. bulbifera* (Db), *D. esculenta* (De), *I. batatas* (Ib), *D. spp.* (Dspp), *D. transversa* (Dtv), *D. nummularia* (Dn), *D. cayenensis-rotundata* (Dcr), *M. esculenta* (Me), and *X. sagittifolium* (Xs). Colors: white (1), yellow (2), orange (3), pink (4), reddish (6), purple (7), two-colored (8), not registered (n.r.).

Table 2. Variation in Primary Compounds within Each Species (in Percent of Dry Matter)

species	accessions (n)	starch		sugars		proteins		minerals		cellulose	
		mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%
<i>D. nummularia</i>	4	87.7	3.7	1.4	115.5	6.5	40.2	2.3	25.1	1.6	10.9
<i>M. esculenta</i>	63	86.5	3.1	4.4	35.8	3.4	31.5	2.5	18.1	3.4	32.1
<i>X. sagittifolium</i>	9	86.2	4.1	2.2	25.6	4.8	13.7	3.4	34.5	3.3	48.9
<i>D. cayenensis-rotundata</i>	6	85.9	3.4	1.9	64.3	7.1	18.0	3.0	22.2	2.1	34.9
<i>Dioscorea</i> spp.	3	84.1	4.5	1.9	70.7	6.2	16.1	4.0	15.2	1.9	12.0
<i>D. transversa</i>	9	81.9	2.9	1.4	45.9	9.2	21.3	3.9	16.0	2.2	24.7
<i>C. esculenta</i>	111	78.2	7.2	5.1	57.9	5.3	35.7	4.0	25.3	3.4	31.0
<i>D. alata</i>	93	76.7	6.8	2.6	76.1	11.6	24.5	4.7	24.7	2.9	34.8
<i>D. bulbifera</i>	6	73.4	5.5	7.4	50.0	8.5	17.4	5.2	24.7	2.9	22.7
<i>D. esculenta</i>	14	72.5	7.5	11.3	31.7	7.5	22.9	3.4	17.3	2.1	33.5
<i>D. pentaphylla</i>	3	70.1	7.4	4.3	37.8	12.4	13.1	6.1	11.0	3.2	37.5
<i>I. batatas</i>	183	69.6	8.5	10.2	46.7	5.9	21.5	3.5	24.0	4.2	40.8

accessions rated as good and poor (Table 1) on the basis of their suitability for the preparation of an excellent *laplap* (Figure 2A). Despite the fact that the physicochemical characteristics of

I. batatas and *D. esculenta* were usually very different, a few accessions of each species grouped in a similar area of the biplot. This suggests that a slight genetic improvement could lead to their

acceptance by consumers. The two emblematic species, *C. esculenta* and *D. alata*, showed high CVs, corresponding to greater genetic variation, and are known to host good and poor cultivars for *laplap*. This is congruent with the results presented in Figure 2B, where some of their accessions are distributed in the two groups.

It is now possible to define a good accession according to these representations. For example, some accessions of *D. alata* and *C. esculenta* were not rated for their culinary quality but were plotted in a given group, suggesting that their rating would have been similar to the average rating of the group concerned. By observing distribution patterns and the position of the mean within its interval of variation (Figure 1), additional information can be obtained. With regard to starch, means were located in the upper range of intervals for *C. esculenta*, *M. esculenta*, and *D. alata*, indicating that selection was conducted for high starch contents. However, the mean value of *I. batatas* was in the midrange of the interval. These observations are consistent with traditional uses. On the other hand, mean sugar and protein contents were located in the lower range of their variation intervals for species rated as "good" for *laplap* preparation (*X. sagittifolium*, *M. esculenta*, *D. transversa*, *D. mummularia*, *D. alata*, *C. esculenta*), indicating that selection was mostly conducted for lower sugar and protein contents. Moreover, the two most widely used species, *C. esculenta* and *D. alata*, had the lowest minimum sugar contents of all species studied (Figure 1). Because mean values for cellulose appeared in the lower range of the interval of variation for each species, high cellulose content is thought to be a rebuttal factor. These findings agree with the analyses of traditional selection processes and local preferences.

In Vanuatu, local consumers consider that an excellent traditional *laplap* made of yam or *C. esculenta* must be white. Flesh color is determined by the presence of pigments such as anthocyanins, flavonols, and isoprenoids. This visual aspect of the dish can play a crucial role in consumer acceptance. However, the color of the *laplap* is less important when other species, such as *M. esculenta* or *X. sagittifolium*, are used. In Figure 2C, the relationships between the color of the raw flesh and the suitability of the cultivar for *laplap* preparation reveal an interesting pattern: every white-fleshed *C. esculenta* was regarded as "good" (except accession CeVU1934). The same was true for pink, reddish, and purple accessions, which were all rated as "good". All yellow-fleshed *C. esculenta* were plotted at the boundary between the two groups, indicating midrange accessions. Among the white-fleshed *D. alata* accessions, a few were plotted next to "good" or "poor" cultivars, although most were plotted in a separate area of the biplot, thus constituting a separate group. Exactly the same was true of pink, reddish, and purple accessions.

Relationships among Primary Compounds. Linear correlations among physicochemical characteristics of 505 selected cultivars were tested. There were significant negative correlations between starch content and cellulose, mineral, protein, and total sugar contents with 0.01% of significance (Table 3). This supports the statement that difficulties will be encountered when attempts are made to improve starch and other components at the same time. However, like total sugar and cellulose contents, mineral and protein contents could be improved together. These findings are based on the whole core sample, plus on *I. batatas* and yam specific data (Table 3). The same correlations were obtained for aroids and *M. esculenta*, except that protein and cellulose contents did not correlate with starch content.

With regard to the 183 *I. batatas* accessions, data presented in Table 3 show an unexpected positive correlation between sugar and protein contents. Because children generally like sweet foods, this correlation is of particular interest. *M. esculenta* exhibits a

Table 3. Simple Linear Correlation Coefficients for Five Major Compounds in Four Root and Tuber Crop Species

species	compounds	starch	sugars	proteins	minerals
aroids 120 accessions ^a	sugars	-0.7388*			
	proteins	-0.1788	-0.0206		
	minerals	-0.6361*	0.2062	0.1490	
	cellulose	-0.5340*	0.2707*	0.0663	0.5483*
yams 139 accessions ^b	sugars	-0.4929*			
	proteins	-0.5781*	-0.2891*		
	minerals	-0.2397*	-0.2365*	0.4221*	
	cellulose	-0.4743*	-0.0420	0.4488*	0.1874
sweet potato 183 accessions ^c	sugars	-0.7559*			
	proteins	-0.5106*	0.2001*		
	minerals	-0.4380*	-0.2615*	0.3453*	
	cellulose	-0.2011*	-0.0225	0.0406	0.1243
cassava 63 accessions ^d	sugars	-0.6945*			
	proteins	-0.3821*	0.1842		
	minerals	-0.5823*	0.4041*	-0.0764	
	cellulose	0.0377	-0.0521	-0.0267	0.0428
overall 505 accessions ^e	sugars	-0.7292*			
	proteins	-0.3096*	-0.1925*		
	minerals	-0.3290*	-0.0684	0.5298*	
	cellulose	-0.3907*	0.2622*	-0.1093	0.0404

^aValue of *r* at 1% = 0.235 (*). ^bValue of *r* at 1% = 0.218 (*). ^cValue of *r* at 1% = 0.190 (*). ^dValue of *r* at 1% = 0.323 (*). ^eValue of *r* at 0.01% = 0.173 (*).

different pattern. Protein content did not correlate with sugar content, and the same was true for cellulose and sugar contents. A characteristic of *M. esculenta* was the positive correlation between total sugar and mineral contents, indicating that selection for increased sweetness could simultaneously improve mineral content.

Focusing on our 120 aroid accessions, and including accessions from various Southeast Asian countries and hybrids (Table 3), major differences appeared between protein and mineral contents. A similar conclusion was drawn when protein and mineral contents were analyzed separately in our 111 *C. esculenta* accessions (excluding *X. sagittifolium* accessions) and our *M. esculenta* accessions.

Of particular interest is the fact that in aroids, there was a positive correlation between cellulose and mineral contents, whereas in yams, there was a correlation between cellulose and protein contents. Both were positive and species-specific, suggesting that selecting for enhanced cellulose content may have different consequences for *C. esculenta* and *D. alata*, that is, the enhancement of mineral content in taro and of protein content in *D. alata*.

Understanding the traditional selection process conducted by local farmers is crucial in assisting breeders select the best cultivars and thus increase health and food security. We have shown that some accessions studied are essential to the improvement process because of their outstanding values. This integrative approach provides added value to previous genetic diversity studies (1, 10–13). Thus, combined with studies using molecular markers, the choice of the right parents for breeding purposes will now be more efficient if it is based on the right chemotype. Daily and traditional uses related to consumer preferences are also in accordance with potential biofortification, but different breeding programs should be initiated to satisfy local requirements.

Traditional Chemotype Selection. On the basis of the findings of the present study, opportunities for biofortification do exist. For example, in aroids, it appears to be feasible to enhance protein

contents without negatively affecting starch content. Negative correlations will probably slow progress because high starch content is under intense selection in most breeding programs. It would thus not be recommendable to increase protein, total sugar, cellulose, or mineral contents as a new breeding objective in the first cycles of ongoing programs. It has been reported that *laplap* made with good taro accessions is based on high dry matter, amylose, and starch contents and concomitantly low mineral and fructose contents (10). *Laplap* made from *D. alata* tubers must have high dry matter, low protein and mineral, and very low total sugar contents (11). These statements are consistent with correlations found in the present study and consumers' opinions concerning the traditional use of selected cultivars.

However, the fact that numerous *D. alata* accessions are considered to be suitable for preparing an excellent *laplap* suggests that more chemical traits than those assayed in this study may play a role. Starch composition is known to play an important role in texture. Yam mucilage (a glycoprotein complex abundantly present in *Dioscoreaceae*) might also play a key role in this process. Of particular interest is the observation that the presence of flesh pigments (isoprenoids, flavonols, and anthocyanins) in the two most widely consumed species is not associated with poor quality, revealing potential scope for biofortification of secondary metabolites. Contrary to a paradigm distributed throughout the Pacific area, nowadays it is important for nutritionists to explain to consumers that varieties with colored flesh are also suitable for preparing a good traditional dish. Isoprenoids (including provitamin A) and anthocyanins exhibit antioxidant activity associated with potential health benefits (23).

Biofortification Opportunities. Fortunately, other cooking methods such as boiling or roasting are not known to be as demanding of tuber quality as the preparation of *laplap*. High starch content yields dry and floury foods, which do not meet local taste preferences. In Vanuatu, where no starch industry exists, a commercial variety is mainly grown for sale at the market. Taking into account the correlations among primary compound contents found in this study and the fact that cooking does not significantly influence major nutrient contents (24), it appears feasible to increase mineral, protein, and cellulose as well as total sugar contents in commercial varieties.

With the aim of improving staple foods by plant breeding, some *I. batatas* and *D. alata* accessions appear to be excellent starting materials, whereas some *M. esculenta* accessions should be considered as somewhat poor. Proteins and reducing sugars are of great concern in the biofortification of staple foods. Except in *D. nummularia*, their contents are highly variable. Unidentified *Dioscorea* species displayed low coefficients of variation for minerals, proteins, and cellulose, very much like *D. cayenensis-rotundata* accessions, and may therefore also belong to the *Enantiophyllum* section.

Our findings support local consumers' and farmers' appreciations of the organoleptic properties of tuber crops. For all of the compounds analyzed except reducing sugars, the distribution ranges of our estimated content values appear to be slightly higher than those previously reported (11). The same conclusion was reached for all of the primary compound content values previously reported in *D. bulbifera*, a wild yam species (25), because they were clearly lower than ours. This supports the hypothesized narrow differences among yam chemotypes. Indeed, similar coefficients of variation were calculated for Ethiopian yam cultivars (15). A comprehensive survey of *D. alata* in Africa (7) also showed maximum contents and means that were markedly lower than ours. Of particular concern for traditional selection in Vanuatu is total sugar content, which was low in this species. The

African study (7) showed that sugars were mainly composed of sucrose.

With regard to *C. esculenta*, the original core sample was built to characterize the diversity in organoleptic properties (10). As a consequence, several accessions with poor eating quality were discarded. In addition, five years of selection process could reasonably have led to a decrease in the coefficient of variation. Except for starch, the results obtained in taro are consistent with previous reports (10). Our *X. sagittifolium* collection comprised only 9 accessions exhibiting relatively little agro-morphological variation compared to our collection of more than 500 *C. esculenta* accessions. Thus, the chemotypic variation observed in *X. sagittifolium* was somewhat unexpected.

In *M. esculenta*, our maximum and means of major primary compound contents (except proteins) are much lower than those previously estimated in the CIAT germplasm (17, 22), in agreement with the fact that *M. esculenta* is an introduced species in the Pacific.

Relationships between primary compounds, flesh color, and quality have been widely studied, and starch is often shown to be negatively correlated with other primary compounds. Flesh color is not a constraint to biofortification processes. Genetic improvement is possible. To prepare a "good" traditional pudding-like dish (*laplap*), high starch and dry matter are required, whereas middle-range contents are more convenient for classical processing for daily consumption (boiling, roasting, etc.). Our results revealed useful correlations suggesting associations that could be exploited to facilitate genetic improvement and biofortification of tropical root crops.

Even if consumer preferences vary considerably around the world, particular organoleptic traits are needed to prepare similarly processed dishes. For example, for the pounded yam dish called *futu* or *fufu* in Nigeria and Ivory Coast (West Africa), cultivars should be selected for their suitability for *fufu*. According to a previous survey (7), the corresponding properties are similar to those required for *laplap* in Vanuatu. Texture is considered to be more important than taste in hedonic evaluation by consumers. Consistency and springiness were reported to be positively correlated with Nigerian preferences, whereas lumpiness was negatively correlated (26, 27). Another study conducted in Nigeria showed a strong correlation between consumer preferences and consistency, stickiness, and color (28). Similarly, consistency is demonstrated as the main trait of interest in defining excellent traditional *fufu* (29). Primary compounds are major characteristics that determine food texture and starch properties, also related to sugar composition. In *C. esculenta*, the negative correlations observed between starch and mineral contents (Table 3) are in agreement with previous studies (10). On the basis of correlations established among *Dioscorea* spp. accessions (Table 3), the selection of an accession suitable for a good *laplap* is more complex. Despite negative correlations, breeders should take into consideration the fact that high starch and mineral contents are required together. To characterize diversity, *D. alata* chemotypic variation was studied in 131 New Caledonia and 48 Vanuatu cultivars, and organoleptic properties were linked to genetically controlled chemotypes (11, 19).

The present study highlights the importance of understanding the chemotypes of tropical root and tuber crops for clonal selection of elite cultivars. Because breeders have often observed the rebuttal of improved varieties based on poor quality (30), it is crucial to include local consumer preferences in the biofortification approach. Loss of biodiversity is a topic of increasing concern, and in developing countries, the cost of maintaining and screening germplasm remains too high. Participatory conservation involving the distribution of suitable cultivars is an

attractive alternative. However, to assist breeders, novel low-cost and high-throughput tools to strengthen the selection of the right parents as well as efficient screening of large progenies are needed.

ACKNOWLEDGMENT

We thank the staff of the Root Crops Section of VARTC at Espiritu Santo, in particular Roger Malapa, Tari Molisale, and Sylvano Malres, for their helpful collaboration. Special thanks are due to Elodie Tariat from Laboratoires d'Analyses Agricoles Teyssier for assistance in analyzing our samples. We also thank the reviewers for giving us the opportunity to improve our manuscript.

Supporting Information Available: Details of accessions. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

LITERATURE CITED

- (1) Caillon, S.; Quero-Garcia, J.; Lescure, J. P.; Lebot, V. Nature of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic diversity prevalent in a Pacific Ocean island, Vanua Lava, Vanuatu. *Gen. Resour. Crop Evol.* 2006, 53, 1273–1289.
- (2) Sardos, J.; McKey, D.; Duval, M. F.; Malapa, R.; Noyer, J. L.; Lebot, V. Evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) after recent introduction into a South Pacific Island system: the contribution of sex to the diversification of a clonally propagated crop. *Genome* 2008, 51, 912–921.
- (3) Bourrieau, M. *Valorisation des racines et tubercules tropicaux pour l'alimentation humaine en Océanie: le cas du laplap au Vanuatu*. Thèse de Master en génie agro-alimentaire méditerranéen et tropical (MSc thesis); ENSA/CIARC: Montpellier, France, 2000; 122 pp.
- (4) Elameen, A.; Fjellheim, S.; Larsen, A.; Rognli, O. A.; Sundheim, L.; Msolla, S.; Masumba, E.; Mtunda, K.; Klemsdal, S. S. Analysis of genetic diversity in a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Tanzania as revealed by AFLP. *Gen. Resour. Crop Evol.* 2008, 55, 397–408.
- (5) Hurtado, P.; Olsen, K. M.; Buitrago, C.; Ospina, C.; Marin, J.; Duque, M.; de Vicente, C.; Wongtiem, P.; Wenzel, P.; Killian, A.; Adeleke, M.; Fregene, M. Comparison of simple sequence repeat (SSR) and diversity array technology (DAT) markers for assessing genetic diversity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Genet. Resour.* 2008, 6, 208–214.
- (6) Bradbury, J. H.; Holloway, W. D. *Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for Nutrition and Agriculture in the Pacific*; Monograph 6; ACIAR: Canberra, Australia, 1988; 201 pp.
- (7) Trêche, S. Valeur nutritionnelle des ignames. In *Proceeding of International Yam Symposium*; Berthaud, Ed.; CIRAD-INRA-ORS-TOM: Montpellier, France, 1988; pp 305–331.
- (8) The AFNOR group. <http://www.boutique.afnor.org/BGRI/accueil-Groupe.aspx> (accessed Sept 3, 2009).
- (9) The R Project for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/> (accessed April 17, 2009).
- (10) Lebot, V.; Prana, M. S.; Kreike, N.; van Heek, H.; Pardales, J.; Okpul, T.; Gendua, T.; Thongjem, M.; Hue, H.; Viet, N.; Yap, T.; C. Characterisation of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic resources in Southeast Asia and Oceania. *Gen. Resour. Crop Evol.* 2004, 51, 381–392.
- (11) Lebot, V.; Malapa, R.; Molisale, T.; Marchand, J. L. Physico-chemical characterisation of yam (*Dioscorea alata* L.) tubers from Vanuatu. *Gen. Resour. Crop Evol.* 2006, 53, 1199–1208.
- (12) Malapa, R.; Arnau, G.; Noyer, J. L.; Lebot, V. Genetic diversity of the greater yam (*Dioscorea alata* L.) and relatedness to *D. nummularia* Lam. and *D. transversa* Br. as revealed with AFLP markers. *Gen. Resour. Crop Evol.* 2005, 52, 919–929.
- (13) Quero-Garcia, J.; Noyer, J. L.; Perrier, X.; Marchand, J. L.; Lebot, V. A germplasm stratification of taro (*Colocasia esculenta*) based on agro-morphological descriptors: validation by AFLP markers. *Euphytica* 2004, 137, 387–395.
- (14) Agbor-Egbe, T.; Trêche, S. Evaluation of the chemical composition of Cameroonian yam germplasm. *J. Food Compos. Anal.* 1995, 8, 274–283.
- (15) Tamiru, M.; Maass, B. L.; Pawelzik, E. Characterizing diversity in composition and pasting properties of tuber flour in yam germplasm (*Dioscorea* spp.) from Southern Ethiopia. *J. Sci. Food Agric.* 2008, 88, 1675–1685.
- (16) Baah, F. D.; Maziya-Dixon, B.; Asiedu, R.; Odoro, I.; Ellis, W. O. Nutritional and biochemical composition of *D. alata* (*Dioscorea* spp.) tubers. *J. Food Agric. Environ.* 2009, 7 (2), 373–378.
- (17) Chávez, A. L.; Sánchez, T.; Jaramillo, G.; Bedoya, J. M.; Echeverry, J.; Bolaños, E. A.; Ceballos, H.; Iglesias, C. A. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. *Euphytica* 2005, 143, 125–133.
- (18) Udensi, E. A.; Oselebe, H. O.; Iwcal, O. O. The investigation of chemical composition and functional properties of water yam (*Dioscorea alata*): effect of varietal differences. *Pak. J. Nutr.* 2008, 7 (2), 341–344.
- (19) Lebot, V.; Trilles, B.; Noyer, J. L.; Modesto, J. Genetic relationships between *Dioscorea alata* L. cultivars. *Gen. Resour. Crop Evol.* 1998, 45, 499–509.
- (20) Aregheore, E. M.; Perera, D. Dry matter, nutrient composition and palatability/acidity of eight exotic cultivars of cocoyams-taro (*Colocasia esculenta*) in Samoa. *Plant Food. Hum. Nutr.* 2003, 58, 1–8.
- (21) Zhang, D. P.; Li, X. Q. Sweet potato as animal feed: the perspective of crop improvement for nutrition quality. In *Sweet Potato Post-harvest Research and Development in China*; Fuglie, K. O.; Hermann, M., Eds.; CIP: ESAP region, Bogor, Indonesia, 2004; pp 26–40.
- (22) Ceballos, H.; Sánchez, T.; Chávez, A. L.; Iglesias, C.; Debouck, D.; Mafla, G.; Tohme, J. Variation in crude protein content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *J. Food Compos. Anal.* 2006, 19, 589–593.
- (23) Saas-Kiss, A.; Kiss, J.; Molotay, P.; Kerek, M. M.; Toth-Markus, M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Res. Int.* 2005, 38, 1023–1029.
- (24) Bradbury, J. H.; Bradshaw, K.; Jealous, W.; Holloway, W. D.; Phimpisane, T. Effect of cooking on nutrient content of tropical root crops from the South Pacific. *J. Sci. Food Agric.* 1988, 43, 333–342.
- (25) Bhandari, M. R.; Kasai, T.; Kawabata, J. Nutritional evaluation of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. *Food Chem.* 2003, 82, 619–623.
- (26) Nindjin, C.; Otokoré, D.; Hauser, S.; Tschannen, A.; Farah, Z.; Girardin, O. Determination of relevant sensory properties of pounded yams (*Dioscorea* spp.) using a locally based descriptive analysis methodology. *Food Qual. Pref.* 2007, 18, 450–459.
- (27) Onayemi, O. Sensory texture profile of African foods made from yam and cassava. *J. Texture Stud.* 1985, 16, 263–269.
- (28) Egesi, C.; Asiedu, R.; Egunjohi, J. K.; Bokanga, M. Genetic diversity of organoleptic properties in water yam (*Dioscorea alata* L.). *J. Sci. Food Agric.* 1998, 83, 858–865.
- (29) Vernier, P.; Dossou, R. A.; Letourmy, P. Influence de la fertilisation chimique sur les qualités organoleptiques de l'igname. *Cah. Agric.* 2000, 9, 131–134.
- (30) Thiele, G.; Garner, G.; Torrez, R.; Gabriel, J. Farmer involvement in selecting new varieties. *Exp. Agric.* 1997, 33, 275–290.

Received for review July 21, 2009. Revised manuscript received September 29, 2009. Accepted September 30, 2009. This research was financially supported by the Fonds Français pour l'Environnement Mondial (FFEM) and represents a part of the Root Crops Agrobiodiversity Project in Vanuatu.

Résumé des résultats obtenus :

La caractérisation de la variabilité chimiotypique a permis de renforcer l'idée que les espèces de RT, pourtant toutes consommées comme aliments de base, peuvent, de part leur diversité interspécifique, avoir des usages variés. Ainsi, certaines espèces sont particulièrement adaptées à la préparation du plat traditionnel (*laplap*) alors que d'autres sont plutôt réservées à la consommation quotidienne (bouillies ou braisées). Leurs chimiotypes ont été mis en évidence.

Si l'on classe les chimiotypes par ordre décroissant de teneurs moyennes en amidon, les cultivars de taro (*C. esculenta*) et de grande igname (*D. alata*) se situent à l'interface entre variétés adéquates à la préparation d'un bon *laplap* et celles qui ne le sont pas. Ceci est en accord avec la valeur culturelle et les usages traditionnels qui reflètent des usages très divers pour les variétés et confirme la forte variabilité intra-spécifique observée chez ces deux espèces.

Les coefficients de variation des teneurs en composés majeurs, montrent pour toutes les espèces, une forte variabilité, exceptée pour l'amidon. Ces résultats indiquent donc des opportunités pour la biofortification de ces composés. L'étude des relations entre ces composés a permis la mise en évidence de corrélations qui dépendent bien souvent de l'espèce concernée. Celles-ci suggèrent des associations très utiles qui devraient permettre la mise en place de stratégies d'amélioration plus efficaces.

Pour les espèces majeures, l'utilisation de cultivars de taro à chair colorée pour la préparation du *laplap*, et de manière encore plus marquée pour la grande igname, est très peu répandue alors que pour les espèces secondaires (*M. esculenta*, *X. sagittifolium*, *D. nummularia*, *D. cayenensis-rotundata*, *D. transversa* et *D. spp.*) la couleur de la chair est beaucoup moins importante comme critère. Les couleurs observées, révélant la présence de caroténoïdes et de flavonoïdes, ne semblent pourtant pas être associées à des chimiotypes inadaptés à cette préparation culinaire traditionnelle. Dans une optique d'amélioration de la santé *via* les propriétés nutritionnelles des aliments de base, ces informations pourraient servir aux nutritionnistes et les aider à augmenter les quantités consommées par le biais de stratégies adaptées.

Pour les améliorateurs, les données produites révèlent des accessions particulièrement intéressantes comme parents potentiels pour l'amélioration génétique par croisements. Ce travail souligne également l'importance de l'étude des chimiotypes pour la sélection clonale des cultivars élités de RT. Afin d'améliorer la santé et d'assurer une sécurité alimentaire stable, il est donc utile que les programmes de biofortification prennent en compte les préférences des consommateurs locaux.

L'étude de la sélection traditionnelle s'avère complémentaire de celle de la diversité des chimiotypes, particulièrement dans une démarche de définition d'idéotypes chimiques précis et en accord avec les besoins réels. On sait désormais que les cultivateurs locaux, bien qu'étant généralement inconscients de la sexualité de leurs plantes, ont bel et bien effectué une sélection empirique mais efficace. Celle-ci a été réalisée sur leurs cultivars multipliés de manière végétative et ayant donc accumulés diverses mutations somatiques, mais aussi sur de nouveaux génotypes issus de graines (Sardos *et al.*, 2008a). Les résultats sont spectaculaires, tant en ce qui concerne les caractères agronomiques que les propriétés chimiques.

Pour les stratégies d'amélioration, cette sélection traditionnelle constitue le révélateur des préférences locales qui correspondent à une composition chimique précise appréciée, mais par ailleurs très difficile à expliquer par le discours. Elle est souvent décrite par et pour le consommateur, avec ses propres termes, puisqu'il est directement intéressé par la valeur propre

du cultivar. Il faut donc insister sur l'importance d'intégrer les connaissances issues de ces savoirs traditionnels aux méthodes d'amélioration génétique. La compréhension de ces savoirs traditionnels peut conduire l'améliorateur moderne à tenter de reproduire, voire d'accélérer, la sélection effectuée par les cultivateurs locaux sur des centaines d'années. Ses objectifs sont donc de l'adapter à l'échelle des cycles de sélection récurrente et de l'optimiser à l'aide de nouveaux outils.

En parallèle, ce travail révèle l'association entre préférences locales et transformations culinaires particulières et définit les chimiotypes de cultivars intéressants. Par exemple, on observe un intérêt grandissant pour certaines espèces, essentiellement lié à leurs bonnes performances agronomiques comme *D. esculenta* (peu atteint par les viroses, très résistant à l'anthracnose et de très fort rendement). Cependant, en ce qui concerne la préparation d'un *laplap* apprécié, nos résultats indiquent qu'il serait vain d'essayer d'améliorer cette espèce pour le *laplap*, tant sa composition chimique est éloignée de l'idéotype recherché. Ceci est d'ailleurs parfaitement en accord avec les savoirs traditionnels. A l'inverse, certaines variétés de patate douce pourraient vraisemblablement convenir pour cette préparation bien que cette espèce soit très rarement utilisée pour le *laplap* de nos jours.

C'est en ce qui concerne l'idéotype des cultivars destinés à la consommation quotidienne (généralement bouillie) que les relations entre composés majeurs apparaissent les plus prometteuses pour la biofortification. Nous avons montré que les teneurs en composés intéressants, comme les protéines ou les sucres totaux, étaient fortement variables chez toutes les espèces sauf chez *D. nummularia*. De plus, grâce aux corrélations révélées, il paraît possible d'améliorer les teneurs en certains composés majeurs sans altérer les teneurs en amidon, pour lesquelles les RT sont principalement cultivées. Certaines études montrent que les variétés utilisées par l'industrie de l'amidon (Brabet *et al.*, 1998) contiendraient des teneurs maximales en amidon fortement en deçà de celles analysées dans notre échantillonnage du Vanouatou (73,8% par rapport à 81,1%).

La variabilité est dépendante de l'environnement de culture, mais il serait très intéressant de pouvoir comparer de manière standardisée les cultivars triploïdes vanouatais de manioc. Les triploïdes indiens sont intéressants pour l'industrie qui recherche de fortes teneurs en amidon, mais ne seraient pas du goût des consommateurs (Sundaresan *et al.*, 1987 ; Abraham, com. pers. 2004). Au Vanouatou, il existerait deux groupes génétiques associés à cette triploïdie (Sardos *et al.*, 2008, 2009) et l'un d'entre eux fait partie de notre échantillonnage. Ces accessions présentées en annexe 1 (signalées par un "3x") affichent des teneurs en amidon légèrement supérieures à la moyenne. Ces triploïdes sont regroupés sous l'appellation locale "*raes*" (qui signifie « riz » en bichelamar). Quand on connaît l'estime pour cette céréale au Vanouatou qui est la première denrée importée (Siméoni, 2009), on comprend que ces maniocs soient connus pour posséder d'excellentes propriétés organoleptiques, en plus de présenter de très bons rendements. Ceci est remarquable et tendrait à montrer que les cultivateurs vanouatais auraient, *via* un processus de sélection traditionnel, réussi là où les améliorateurs indiens connaissent des difficultés. Les perspectives pour l'amélioration participative sont donc intéressantes.

Discussion sur la texture :

Comme déjà mentionné, les chimiotypes ont un rôle très important dans la constitution de la texture, mais ils ne sont pas les seuls impliqués. Les difficultés rencontrées dans la distinction

des cultivars de grande igname (*D. alata*) adaptés à la préparation d'un bon *laplap* en seraient une indication. L'hypothèse que nous avons émise pour expliquer ce phénomène portait sur les propriétés intrinsèques que conférerait le mucilage (complexe glyco-protéique particulièrement important chez la grande igname) aux préparations à base d'igname. Le chauffage induit une gélatinisation et une modification de la structure des granules d'amidon. Le mucilage (contenant 90% d'eau) chauffé à 70°C forme une structure compacte alors que le mélange amidon-mucilage montre des propriétés différentes, certainement liées aux interactions entre ces deux composants (Yeh *et al.*, 2009). Un gonflement du mélange amidon/mucilage est observé au cours du processus de chauffage. C'est ce gonflement qui semble retarder le phénomène de compaction des granules observés avec l'amidon seul.

Une seconde hypothèse peut également être formulée. La texture de certains cultivars de *D. alata*, inadaptées à la préparation de bonnes ignames pilées en Afrique, serait liée à la disruption des parois cellulaires (Brunnschweiler *et al.*, 2006). En effet, les différences de fermeté observées entre les pâtes formées à base de *D. alata* et *D. cayenensis-rotundata* seraient dépendante de l'étendue de ce phénomène, mais aussi des propriétés intrinsèques des amidons et de leurs interactions avec les autres composants de la matrice végétale. La préparation à base de *D. cayenensis-rotundata* présente en effet une meilleure conservation des structures pariétales des cellules. Par contre, la cohésion de ces pâtes serait principalement influencée par la composition même des amidons, à savoir les proportions entre amylose et amylopectine ainsi que l'état d'agrégation de l'amylose.

Le mode de cuisson traditionnel le plus répandu dans le Pacifique est la cuisson au four mélanésien (Figure 7). Ce mode de cuisson à l'étouffée pour le manioc ou le taro, comme une cuisson à la vapeur, n'engendrerait pas de diminutions des teneurs en composés majeurs (amidon, protéines, minéraux, sucres et fibres) (Kumar and Aalbersberg, 2006a).

Les caractères agro-morphologiques, tout comme les usages, sont très diversifiés au Vanouatou. L'étude des relations entre la structure pariétale cellulaire et les préférences en termes de transformation en *laplap* chez les cultivars vanouatais, pourrait vraisemblablement permettre la compréhension des déterminants de formation de la texture de ces préparations. Ceci permettrait de confirmer, ou de nuancer, les résultats présentés par Lebot *et al.* (2005) quant aux relations entre ratios amylose/amidon et préférences locales. Néanmoins, dans une optique de diversification de l'alimentation mais aussi pour accroître la consommation d'anthocyanes par exemple (absent chez *D. cayenensis-rotundata*), il semble intéressant d'introduire des cultivars vanouatais de grande igname (*D. alata*) dans l'Ouest Africain.

Au Vanouatou, les deux espèces les plus importantes dans la culture locale, le taro et la grande igname, sont encore aujourd'hui très utilisées comme valeur traditionnelle d'échange, lors de cérémonies de mariage, de décès, pour le passage à l'âge adulte ou plus simplement afin de renforcer les relations sociales par un système de dons et de dettes (Bonnemaison, 1986). Chez ces deux espèces, malgré une diversité génétique cultivée relativement restreinte (Lebot *et al.*, 1998 ; Malapa *et al.*, 2005 ; Noyer *et al.*, 2004 ; Quero-García *et al.*, 2004, 2006 ; Sardos *et al.*, 2008, 2009), on retrouve une diversité chimiotypique très impressionnante (Champagne *et al.*, 2009 ; Lebot *et al.*, 1998, 2004, 2006), reflétant la diversité phénotypique globale, elle aussi tout à fait remarquable. Ce genre d'approche de l'agrobiodiversité *via* le phénotypage (ou chimiotypage) des caractères physico-chimiques permet l'étude de la variabilité des caractères

utiles, les chimiotypes. Ceci est important pour une approche intégrative entre phénotypage (incluant donc le chimiotypage) et génotypage.

Puisqu'ils sont impliqués dans les goûts âcres et amers de certains cultivars de RT, le processus de sélection traditionnelle a probablement limité la présence de composés anti-nutritionnels. De manière inconsciente, les cultivateurs locaux ont peut-être favorisé la suppression de composés utiles pour la défense de la plante. Si cette hypothèse était vérifiée, les risques d'épidémie iraient croissants. Cette sélection particulièrement efficace et bien adaptée à un environnement insulaire préservé de l'introduction de pathogènes, a pu donc être menée sur les propriétés organoleptiques et sur les rendements. Ceci expliquerait les remarquables caractéristiques des cultivars d'Océanie. En prenant en compte tous ces éléments, il apparaît capital d'introduire des accessions résistantes aux maladies connues, et ce de manière régulière et constante.

Avancées réalisées :

Afin de mieux situer notre travail, il convient de résumer les avancées apportées quant à l'état de l'art (Tableau 2). N'ont pas été inclus les travaux de synthèse de Trèche (1998) sur les ignames et de Bradbury et Holloway (1988) sur toutes les espèces, puisque ces synthèses rassemblent des données obtenues à partir de plantes cultivées dans des environnements pédoclimatiques différents et parfois même avec des protocoles d'analyse différents qui ne permettent donc pas des comparaisons objectives. De plus, ces études datent de plus de 10 et 20 ans et les programmes d'amélioration ont depuis connu de nombreux succès. Pour les mêmes raisons, ce tableau n'inclus pas le criblage en cours de milliers d'accessions de manioc et de patate douce que réalisent le CIAT et le CIP. Ces criblages utilisent des méthodes de prédiction des teneurs au moyen de Spectrométrie du Proche Infrarouge (SPIR). Cette technologie appliquée à la sélection de plantes à multiplication végétative est innovante et prometteuse. Nous avons d'ailleurs commencé à en étudier le potentiel sur la collection du Vanouatou et ce travail a fait l'objet d'une publication dans *Journal of Agricultural and Food Chemistry* intitulée : "NIR determination of major constituents in tropical root and tuber crop flours". Lebot V., Champagne A., Malapa R. and Shiley D. ([DOI:10.1021/jf902675n](https://doi.org/10.1021/jf902675n)) (annexe 4).

Notre étude sur les composés majeurs a permis de réaliser la caractérisation la plus complète à ce jour, des collections de taro (*C. esculenta*) et de grande igname (*D. alata*). Les données obtenues révèlent l'étendue de la variabilité intra-spécifique et laissent penser qu'un meilleur choix des parents, sélectionnés sur leurs caractères propres, permettrait d'obtenir un plus grand nombre d'hybrides proches des goûts des consommateurs, surtout dans le cadre de croisements contrôlés. Ces données pourraient aussi être utiles aux améliorateurs qui travaillent dans d'autres pays que le Vanouatou car, d'un point de vue méthodologique, elles révèlent l'importance de caractériser les chimiotypes des parents sélectionnés pour les croisements.

En ce qui concerne les autres espèces étudiées, bien que notre étude ait porté sur un échantillonnage plus réduit que celui de Sanchez *et al.* (2009), nous observons des maxima identiques pour les teneurs en amidon (91%). Par contre, en ce qui concerne la patate douce et bien que notre échantillonnage soit plus faible que la collection du KONARC (*Kyushu Okinawa Region National Agricultural Research Center*) (Toyama *et al.*, 2006), nos valeurs révèlent une très grande variabilité et l'équivalent ne semble pas avoir été documenté à ce jour.

C'est aussi, à notre connaissance, la première fois qu'un travail d'une telle ampleur est réalisé pour comprendre le processus de sélection traditionnelle des chimiotypes en Mélanésie, aux niveaux inter- et intra-spécifique. Cette sélection semble conduire à favoriser les génotypes présentant des teneurs en amidon assez élevées. Cette tendance est observée chez le manioc en comparaison avec les valeurs présentées par Sanchez *et al.* (2009) mais aussi chez la patate douce en comparaison avec les valeurs présentées par Brabet *et al.*, (1998). La moyenne des teneurs en amidon au sein de la collection de patate douce du CIP est en effet de 61,5%MS contre 69,6% au Vanouatou. Ceci confirme donc les préférences locales mises en évidence pour la préparation du plat traditionnel, le *laplap*, puisque, bien que la patate douce soit rarement utilisée, certains cultivars sont adaptés à la préparation de ce plat (pauvres en sucres et riches en amidon).

Tableau 2 : Synthèse bibliographique des principales études menées sur la variabilité chimiotypique des composés majeurs et comparaison avec les RT cultivées au Vanouatou.

Référence	Origine	Sp.	Acc.	Intervalles min-max en % de matière sèche				
				AMD	PROT	SUC	MIN	CEL
Chávez <i>et al.</i> , 2005	CIAT	<i>Me</i>	2457		0,77-8,31	0-12,9	0,58-3,55	
Ceballos <i>et al.</i> , 2006	CIAT	<i>Me</i>	149		0,95-6,42			
Sánchez <i>et al.</i> , 2009	CIAT	<i>Me</i>	4044	65-91		0-15,1		
Purcell <i>et al.</i> , 1972	NCSU	<i>Ib</i>	99		1,73-9,14			
Takahata <i>et al.</i> , 1992	KONARC	<i>Ib</i>	54			4,2-27,5		
Brabet <i>et al.</i> , 1998	CIP	<i>Ib</i>	108	11-34*				
Toyama <i>et al.</i> , 2006	KONARC	<i>Ib</i>	800		0,8-5,4			
Wills <i>et al.</i> , 1983	PNG	<i>Ce</i>	22	20-35*	0,5-2,1			1,4-5,4
Agbor-Egbe & Rickard, 1990	commerce	<i>Ce, Xs</i>	32	51-71	3,75-7,36	0,6-4,2	2,87-7,77	0,4-4,2
Lebot <i>et al.</i> , 2004	TANSAO	<i>Ce</i>	31	37-78	3,7-15,8	1,1-10,7	1,6-6,6	
Lebot <i>et al.</i> , 1998	NC	<i>Da</i>	131	56-83	4,9-12,4		2,93-4,71	
Lebot <i>et al.</i> , 2005	SPYN	<i>Da</i>	48	64-79	8,8-17,0	0,6-5,7	2,5-4,9	
Agbor-Egbe & Trèche, 1995	Cameroun	<i>D. spp.</i> (5)	98	60-85 <i>Da-Dcr</i>	3,7-15,6 <i>Dcr-Da</i>	0,8-18,1 <i>Da-Da</i>	1,4-4,4 <i>Dcr-Da</i>	1,2-5,8 <i>Dcr-Db</i>
		<i>Me</i>	63	80-91	1,33-5,61	1,5-10,1	1,24-3,53	1,7-7,0
		<i>Ib</i>	183	53-84	2,67-10,2	1,5-25,3	2,06-8,22	2,4-14,0
Champagne <i>et al.</i> , 2009	VARTC	<i>Ce, Xs</i>	120	61-89	2,3-14,79	0,9-18,6	1,47-8,13	1,4-7,3
		<i>D. spp.</i> (6)	138	59-90 <i>Da-Dcr</i>	4,40-21,0 <i>Dn-Da</i>	0,4-18,3 <i>Da-De</i>	1,58-8,14 <i>Dn-Da</i>	0,1-6,3 <i>De-Da</i>

* en % de matière fraîche.

Acc. (Nombre d'accessions), NCSU (Université de l'Etat de Caroline du Nord), PNG (Papouasie-Nouvelle-Guinée), NC (Nouvelle Calédonie), AMD (Amidons), PROT (Protéines), SUC (Sucres Totaux), MIN (Minéraux), CEL (Cellulose), Spp. (espèces), *Me* (*Manihot esculenta*), *Ib* (*Ipomoea batatas*), *Ce* (*Colocasia esculenta*), *Xs* (*Xanthosoma sagittifolium*), *Da* (*Dioscorea alata*), *Dsp* (*Dioscoreaceae*), *De* (*D. esculenta*), *Dcr* (*D. cayenensis-rotundata*), *Dn* (*D. nummularia*).

Nous avons souligné en introduction l'influence de l'environnement sur la variabilité. Il est donc nécessaire, pour que des comparaisons objectives puissent être effectuées, que les génotypes soient étudiés en conditions de culture standardisées. Ceci est illustré par les valeurs présentées par les populations d'amélioration de patates douces étudiées par Toyama *et al.*, (2006). Elles sont destinées à l'alimentation animale et ces génotypes visent l'amélioration des teneurs en protéines, ils devraient donc présenter des concentrations très élevées. Or, les valeurs révélées par notre travail montrent des maxima plus de deux fois supérieurs à ceux des lignées de Toyama *et al.*, (2006). Les auteurs remarquent, en accord avec Purcell *et al.* (1982), que les teneurs en azote dans le sol influent grandement sur les concentrations en protéines et qu'un génotype peut présenter des teneurs variant de 2,9 à 9,2%MS dans des environnements différents. Les fortes teneurs relevées au Vanouatou (2,7-10,2%) pourraient ainsi être liées aux riches sols de cet archipel volcanique mais cela mériterait d'être étudié dans la mesure où nos hybrides sont issus d'une parcelle argileuse relativement pauvre. Il serait donc aussi possible qu'ils soient réellement riches en protéines.

Une tendance similaire semble conforter notre approche visant la comparaison des génotypes. Au Japon, l'étude menée sur les teneurs en sucres de la patate douce montre un coefficient de corrélation entre les teneurs mesurées pour un même génotype d'une année sur l'autre, assez faible (0,65) (Takahata *et al.*, 1992). Malgré le fait que la comparaison directe avec les données produites par ces auteurs serait délicate, notre intervalle de variation est plus large alors que nos maxima sont plus faibles.

Nos teneurs mesurées en protéines chez la grande igname (*D. alata*) sont très élevées (21%MS) en comparaison des valeurs relevées dans la collection du Cameroun (15,6%). En classant ces teneurs par ordre croissant, on observe que les maxima sont représentés par des accessions indiennes issues de graines. Il s'avère que ces accessions, certes résistantes à l'anthracnose, sont très riches en protéines mais ne sont pas consommables et ceci est probablement dû au fait que ces fortes teneurs sont observées au détriment de celles en amidon et en sucres. Il est donc important de s'assurer de l'acceptabilité des nouveaux génotypes par le consommateur, et il est ainsi probable que l'on touche aux limites de l'amélioration des teneurs en protéines chez cette espèce. Néanmoins, il convient de noter qu'un cultivar vanouatais (VU595) affiche aussi des teneurs très élevées de 18,3%MS.

De nombreuses corrélations ont été mises en évidence au cours de ce travail et il est important de noter que l'amélioration des teneurs en amidon et autres composés principaux risque d'être difficile à réaliser de manière concomitante. Cependant, il est intéressant d'observer que sucres totaux et cellulose, tout comme minéraux et protéines, devraient pouvoir être améliorés ensemble. Les enfants aiment généralement les aliments sucrés et la corrélation positive révélée chez la patate douce entre sucres totaux et protéines est particulièrement intéressante. Chez le manioc, l'augmentation des teneurs en sucres devrait mener à une augmentation des teneurs en minéraux, tout en ne limitant pas l'amélioration des teneurs en protéines. Les deux espèces traditionnellement importantes dans le Pacifique (*C. esculenta* et *D. alata*) montrent des caractéristiques différentes et une sélection réalisée pour la cellulose devrait conduire à l'amélioration des minéraux chez le taro et à celle des protéines chez la grande igname. Ainsi, des programmes d'amélioration bien ciblés et donc plus efficaces, parfois avec des objectifs différents, devraient pouvoir être mis en place.

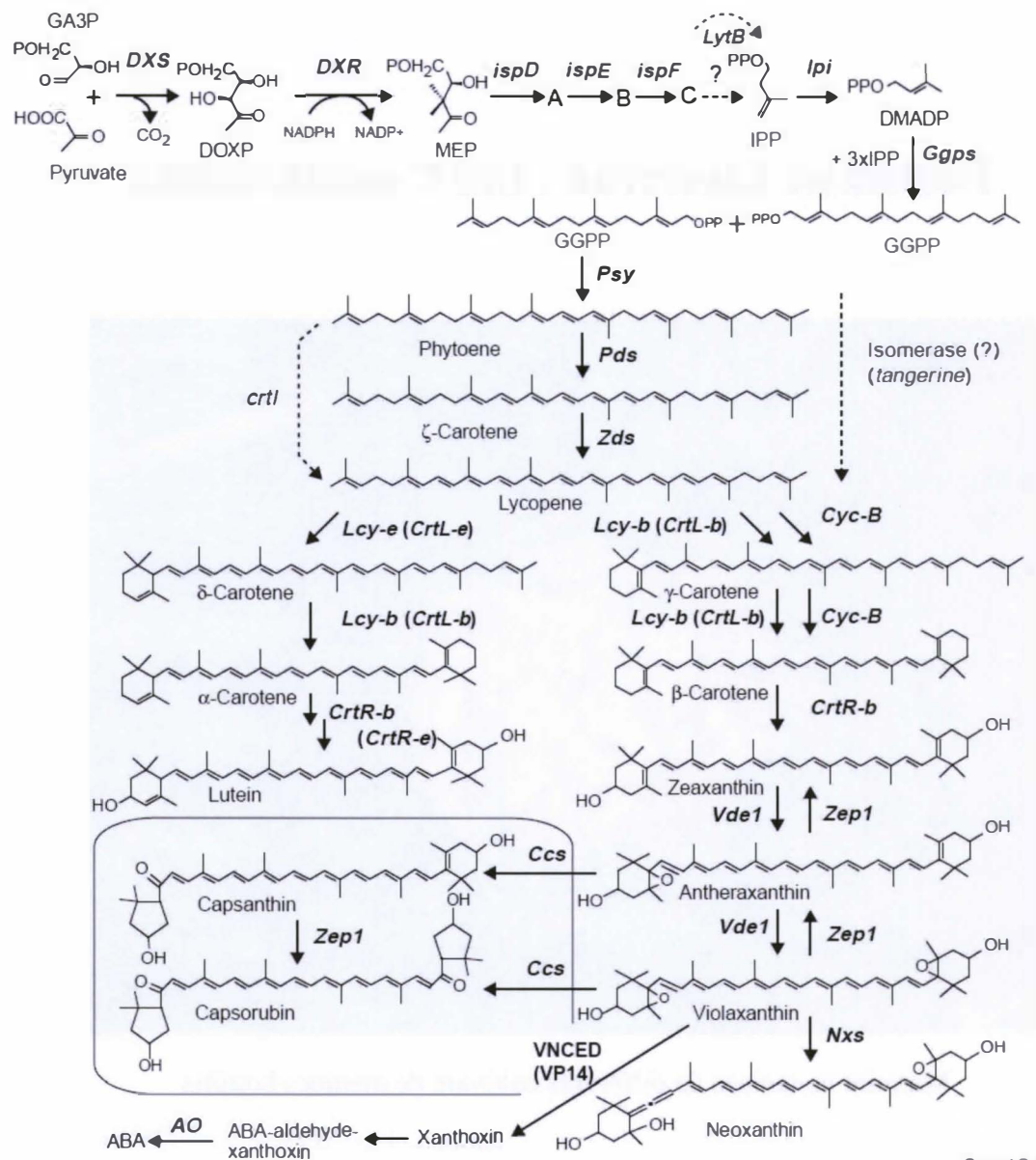
La comparaison interspécifique des RT, souvent interchangeables dans l'alimentation de base, n'était jusqu'ici possible qu'à travers des travaux de synthèse réalisés à partir d'échantillons provenant de diverses localités. Au terme de notre travail sur les composés majeurs, on comprend mieux pourquoi elles sont utilisées et comment elles pourraient l'être à l'avenir. En accord avec les précédentes études, nous réaffirmons néanmoins la nécessité de continuer l'étude et la promotion de ces plantes, souvent délaissées au profit des céréales.

Notre travail a mis en évidence les opportunités pour la biofortification en composés majeurs. Toujours dans la même optique, la caractérisation des collections du Vanouatou et l'étude des possibilités d'amélioration génétique des teneurs en métabolites secondaires, intéressantes pour la santé que sont les caroténoïdes, représente l'objet du chapitre suivant.

TROISIEME CHAPITRE : LES CAROTENOÏDES



Marmite de racines de différents cultivars de manioc bouillis



Current Opinion in Plant Biology

Figure 8 : Voie de biosynthèse des caroténoïdes chez les plantes, d'après Hirschberg (2001). Les enzymes sont nommées selon le composé qu'elles synthétisent.

TROISIEME CHAPITRE : LES CAROTENOÏDES

1. Des enjeux considérables

1.1 Présentation

Il existe actuellement un consensus visant l'amélioration des propriétés nutritionnelles des aliments afin de lutter contre les carences en micronutriments (Bouis, 2003). Par exemple, un apport limité en caroténoïdes de type provitamine A, principalement rencontré dans les pays en voie de développement, représente un réel problème puisque les carences en vitamine A, indispensable à l'homme, peuvent mener à la cécité. La provitamine A apportée par l'alimentation est un dimère de vitamine A dont la production chez l'homme est assurée par hydrolyse de la double liaison médiane et la formation d'une fonction alcool.

Il existe plus de 700 caroténoïdes, dont plus de 50 sont de type provitamine A. On les trouve chez de nombreuses espèces photosynthétiques ou non. On les trouve aussi bien dans des bactéries, des champignons qu'évidemment des plantes à fleurs. Seulement 40 sont retrouvés en quantité non négligeable dans l'alimentation humaine. Constitués généralement d'une chaîne de huit motifs isoprènes de 40 carbones pouvant être terminée par un cycle β ou acylée par divers groupements, on peut les classer en trois classes :

- les caroténoïdes acycliques,
- les caroténoïdes cycliques, et
- les xanthophylles.

Grâce aux propriétés optiques conférées par leurs structures, une grosse partie des molécules de cette famille sont des pigments, connus pour donner des couleurs allant du jaune clair au rouge.

Dans la classe des caroténoïdes acycliques, on retrouve par exemple le phytoène qui est un des premiers caroténoïdes formé dans la voie de biosynthèse (Figure 8) et qui apparaît incolore (Fraser and Bramley, 2004). Le lycopène, également acyclique, est bien connu puisqu'il est le caroténoïde majeur responsable de la couleur rouge du fruit le plus consommé de la planète : la tomate (*Solanum lycopersicum*).

Dans la classe des caroténoïdes cycliques, on trouve l'caroténoïde le plus présent dans l'alimentation, à savoir le β -carotène (plus précisément le *all-trans- β -carotène*) mais aussi l' α -carotène, tous deux présents en quantité non négligeable chez la carotte (*Daucus carotta*) par exemple, d'où le nom de cette classe de molécules est issu.

La classe des xanthophylles rassemble des caroténoïdes ayant incorporé des oxygènes, sous forme de fonction hydroxy (les caroténols) ou époxy (les époxycaroténoïdes).

La lutéine, la zéaxanthine ou la β -cryptoxanthine sont des caroténols, alors que la violaxanthine ou l'antheraxanthine sont des époxycaroténoïdes.

Il existe également des caroténoïdes ayant des structures atypiques comme la capsanthine retrouvée chez le piment (*Capsicum annuum*).

De part sa structure comprenant un cycle β à chaque extrémité, le β -carotène correspond parfaitement à un dimère de vitamine A (en ajoutant une molécule d'eau au bout de chaque chaîne isoprénique néoformée). En plus de ce caroténoïde majeur, uniquement ceux possédant au moins un cycle β sont considérés de type provitamine A. Parmi les plus courants, on retrouve le

γ -carotène, l' α -carotène, la β -cryptoxanthine, l' α -cryptoxanthine et le β -carotène-5,6-époxy (Rodriguez-Amaya and Kimura 2000).

Chez les plantes supérieures, il existerait au moins trois grands rôles physiologiques des caroténoïdes (Demmig-Adams *et al.*, 1996). Tout d'abord lors de la photosynthèse, les caroténoïdes sont des pigments secondaires permettant de capter et de transférer de l'énergie au photosystème, mais aussi permettant la capture d'énergie excédentaire venant des chlorophylles. Les caroténoïdes jouent également un rôle de capture et de dissipation de l'énergie d'excitation en chaleur. Dans les fruits et les fleurs, ils ont aussi un rôle d'attraction des pollinisateurs et disperseurs de graines. En ce qui concerne les organes souterrains de réserve, la fonction *in planta* est moins évidente. Néanmoins, au vu de l'activité anti-oxydante démontrée par ces molécules, on est en droit de s'interroger sur une potentielle implication dans les mécanismes de défense. Il paraît cependant logique de supposer que ce genre de caractère, lié à un phénotype visible, ait été favorisé par la sélection humaine.

1.2 Intérêts nutritionnels

Certains caroténoïdes sont des précurseurs dans la synthèse de vitamine A chez l'homme. Englberger *et al.* (2008) rappellent que ces carences sont un problème en Afrique mais aussi sur les atolls du Pacifique et que ceci est certainement à mettre en relation avec la transformation des modes de vie et des régimes alimentaires. D'autres études montrent que la consommation de certains xanthophylles, comme la lutéine et la zéaxanthine, réduiraient les risques de cataracte et de dégénérescence maculaire liée à l'âge (Mares *et al.*, 2006). Ces maladies posent essentiellement problème aux personnes de plus de 50 ans dans les pays riches. L'origine de leur action serait liée à leur capacité à capturer des radicaux oxydants et, de ce fait, ralentir le vieillissement cellulaire. Ces xanthophylles seraient également impliquées dans la réduction de l'éblouissement par le soleil chez les personnes saines (Stringham and Hammond, 2007). Ce rôle de photo-protection est bien connu pour le β -carotène. Il protège des agressions de la peau par les rayons ultra-violet et réduit la gravité des érythèmes causés.

Certaines études montrent que le β -carotène pourrait réduire le risque d'apparition de maladies cardiovasculaires. Actuellement, les hypothèses les plus probables pour expliquer cette action concernent la diminution de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité et la capture des radicaux oxydants (Kohlmeier and Hastings, 1995). Toutefois, d'autres travaux avancent des effets limités, voire nuls, sur l'incidence des maladies et arrêts cardiaques (Cooper *et al.*, 1999).

Diverses études montrent des effets sur certains types de cellules tumorales et même certains cancers, du poumon, du sein, de la prostate ou encore colorectal (Stahl and Sies, 2005). Ainsi, le β -carotène montre diverses actions, mais ce serait l' α -carotène qui aurait l'impact le plus important sur la limitation de la prolifération de cellules tumorales de la peau, du poumon, du foie et du colon (Nishino *et al.*, 2008). Par contre, une étude montre aussi une augmentation de la fréquence des cancers du poumon chez les hommes fumeurs consommant des compléments alimentaires de type pilule de β -carotène. Il semblerait donc que les caroténoïdes apportés en mélange dans l'alimentation soient plus bénéfiques que les compléments alimentaires (Wright *et al.*, 2003).

Finalement, il est important de noter que les études cliniques sur la santé sont difficiles à mener. Il est de ce fait difficile de savoir si les effets observés sur la prolifération de cellules en culture sont transposables au niveau d'un individu ou d'une population *via* leur régime

alimentaire. Ceci n'empêche pas certaines propriétés des caroténoïdes d'avoir été clairement prouvées et leurs actions sont bien décrites, alors que d'autres doivent encore être considérées comme des études préliminaires. Il semblerait même que de nombreux effets soient liés aux propriétés anti-oxydantes de ces molécules. En plus des problèmes liés aux carences en provitamines A, les études confirment donc les bénéfices de certains caroténoïdes en termes de santé (Rao and Rao, 2007). Les effets bénéfiques pour la santé et le bien-être ne sont donc pas limités aux seuls pays du Sud, où l'on observe encore aujourd'hui des carences importantes.

1.3 Des enjeux internationaux

Les données concernant les compositions et teneurs en métabolites secondaires sont importantes à différents niveaux. Les informations renseignant la composition précise d'un cultivar sont utiles pour les programmes d'amélioration. Elles permettent l'amélioration des teneurs *via* le choix de parents et la sélection des descendances, sans avoir besoin d'utiliser des biotechnologies, souvent coûteuses et difficiles à utiliser sous les Tropiques. L'identification d'espèces ou de cultivars en tant que source de caroténoïdes "naturels" (ou labellisés "agriculture biologique") est aussi intéressante pour leur commercialisation, voire leur exploitation comme source de compléments alimentaires. Comprendre et estimer la variabilité au niveau intraspécifique permet le choix de cultivars mieux adaptés et moins exigeants en intrants. Nous ne traiterons ici que des aspects nutritionnels et des enjeux pour la santé (Figure 9).

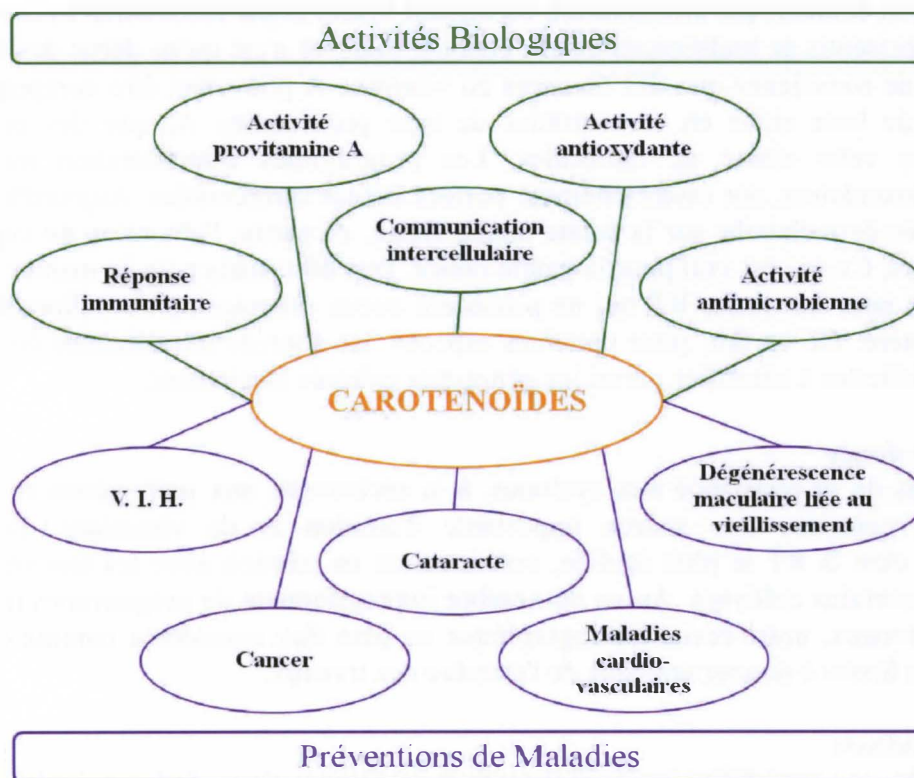


Figure 9 : Activités des caroténoïdes sur la santé d'après Rao et Rao (2007)

Au vu du nombre important de propriétés présentées brièvement ci-dessus et synthétisées en figure 9, nous ne listerons pas en détail les potentiels de ces molécules en termes de santé. La plus connue des propriétés démontrées par certains caroténoïdes est certainement le fait qu'ils soient une source de provitamine A. Une étude récemment menée par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2009a) montre qu'environ 190 millions d'enfants préscolarisés et 19 millions de femmes enceintes présentent des carences en vitamine A dans les pays à risque. Au sein de ces populations, respectivement 5,2 et 9,8 millions sont atteints de troubles de la vision, et environ la moitié et le tiers de ces enfants et femmes respectivement, se trouvent en Afrique. Quant à la dégénérescence maculaire liée à l'âge, elle pose problème à environ 314 millions de personnes à travers la planète et principalement dans les pays riches, dont pas moins de 45 millions sont devenus aveugle (site WHO.int, 2009b).

On observe en effet, un engouement pour la consommation de molécules à activité anti-oxydante, potentiellement bénéfiques pour la santé humaine, comme les caroténoïdes. Leur étude est donc intéressante pour la santé, surtout en zone tropicale humide où se trouve concentrée la majeure partie de la population mondiale. Il se trouve que c'est aussi dans cette zone que sont cultivées les RT et donc leurs teneurs en caroténoïdes présentent un intérêt particulier.

1.4 Les contraintes liées à l'amélioration génétique des RT

Le cadre de l'amélioration

Les premiers agriculteurs auraient opéré une sélection des caroténoïdes, probablement par attirance pour la couleur, par amélioration du confort visuel et par association avec des bénéfices nutritionnels ressentis et traditionnellement connus. Mais ce n'est qu'au début des années 1980, avec la prise de conscience que des carences en vitamine A pouvaient être compensées par une alimentation de base riche en caroténoïdes de type provitamine A, que des études ont été orientées vers cette classe de molécules. Les programmes d'amélioration menés sur les métabolites secondaires, ont essentiellement portés sur les caroténoïdes. Aujourd'hui quasiment tous les centres de recherche sur la patate douce visent, en partie, l'obtention de cultivars riches en caroténoïdes. Ce qui est vrai pour la patate douce, l'est désormais pour le manioc mais ne l'est cependant pas pour les autres RT qui ne possèdent aucun programme d'amélioration génétique pour ce caractère. De ce fait, pour certaines espèces, les sources intéressantes en caroténoïdes sont encore difficiles à identifier parmi les génotypes cultivés localement.

Patate douce

En plus de sa résistance aux cyclones, à la sécheresse, aux pathogènes et ravageurs, la patate douce constitue une source importante d'amidon et de vitamines. En termes de caroténoïdes, c'est la RT la plus étudiée, certainement en relation avec les teneurs très élevées présentées par certains cultivars. Au vu du nombre impressionnant de programmes internationaux et surtout nationaux, notre revue bibliographique ne peut être considérée comme exhaustive et son objectif se limite à donner une idée de l'étendue des travaux.

Les couleurs

Il existe une variabilité impressionnante des pigmentations de la chair de la racine : du blanc au violet foncé, en passant par le jaune, le orange ou encore des mélanges de jaune/orange, orange/violet ou blanc/violet. Les concentrations en caroténoïdes varient fortement d'un cultivar

à l'autre et cette variabilité d'origine génétique a été relevée très tôt (Ezell and Wilcox, 1952). Ces auteurs constatent visuellement sur quatre cultivars jaune-orange que leurs concentrations en carotène augmentent en fonction de l'intensité de couleur de la variété. Un bon nombre de travaux montrent chez la patate douce que les caroténoïdes seraient responsables de la couleur orange des cultivars et que ceux-ci sont génétiquement contrôlés (Ezell *et al.*, 1952 ; Purcell, 1962 ; Purcell and Walter, 1968b ; de Almeida-Muradian, 1992 ; Takahata *et al.*, 1993 ; Simonne *et al.*, 1993 ; K'osambo *et al.*, 1998 ; Babu, 2006). Ainsi, tous les travaux entrepris sur la racine de patate douce à chair orange montrent que c'est le β -carotène (*all-trans*- β -carotène) qui représente la majorité des caroténoïdes (Ezell and Wilcox, 1952 ; Bradbury and Holloway, 1988 ; Simonne *et al.*, 1993 ; K'osambo *et al.*, 1998 ; Hagenimana *et al.*, 1999 ; Lako *et al.*, 2007). Des pigments jaunes comme la violaxanthine et des quantités variables de xanthophylle auraient également été mis en évidence (Bradbury and Holloway, 1988).

Les compositions et teneurs

Au niveau interspécifique, Lako *et al.* (2007) montrent que parmi les aliments amylacés (patate douce, ignames, taro, macabo, manioc, bananes de Micronésie), la patate douce orange contiendrait une quantité de β -carotène largement supérieure aux autres. De plus, la patate douce posséderait un pouvoir anti-oxydant plus élevé que tous les aliments de base aux îles Fidji. Ceci peut être expliqué, en partie, par la contribution du β -carotène à la capacité anti-oxydante des extraits lipophiles variant entre 36,3 à 79,6% (Oki *et al.*, 2006).

En termes de proportions, chez certains cultivars à racine fortement orange, plus de 85% des caroténoïdes totaux seraient des *all-trans*- β -carotènes (Ezell and Wilcox, 1952 ; Purcell and Walter, 1968b ; Takahata *et al.*, 1993 ; K'osambo *et al.*, 1998). Une variabilité des proportions relatives en β -carotènes par rapport aux autres caroténoïdes est observée dans quelques études, allant de 0,1% pour un cultivar blanc, à 90% pour un cultivar orange. Les teneurs en β -carotènes seraient fortement corrélées aux caroténoïdes totaux, uniquement chez les cultivars oranges (K'osambo *et al.*, 1998 ; Hagenimana *et al.*, 1999). Takahata *et al.* (1993) montrent également que pour chacun des 22 cultivars à chair orange étudiés, plus de 90% des caroténoïdes totaux sont des β -carotènes. De fortes concentrations en caroténoïdes totaux observées chez les cultivars à chair orange, sont moyennes chez les cultivars crème et sont faibles à très faibles chez les cultivars jaunes, blancs et violets. Les cultivars à très faibles concentrations en β -carotènes seraient blancs, crèmes ou violets (Simonne *et al.*, 1993). Les teneurs en un composé non-identifié, vraisemblablement un xanthophylle, domine pour les cultivars de couleur blanche ou crème (K'osambo *et al.*, 1998). Enfin, les variétés de patate douce à chair orange présenteraient une majorité de β -carotènes et une faible quantité de xanthophylles et inversement pour les variétés de couleur crème. Pour les variétés dont les racines sont d'un jaune intense, ils seraient retrouvés en quantités égales (Babu, 2006).

Dès 1952, Ezell et Wilcox montraient que les variétés ayant les couleurs les plus intenses contiennent jusqu'à 6,29 mg/100gMF. Après des d'années d'amélioration, Takahata *et al.* (1993) présentent des variétés contenant jusqu'à 26,5 mg/100gMF de β -carotènes et sept de leurs cultivars sont au-dessus de 14 mg/100gMF. Après encore quelques années d'amélioration, au CTCRI en Inde, Vilama *et al.* (2006) présentent des variétés contenant jusqu'à 13,83 mg/100gMF. Plus récemment, Maoka *et al.* (2007) ont analysé la composition et les proportions en caroténoïdes totaux d'une variété commerciale à chair jaune. Ils identifient 11 caroténoïdes,

dont quatre nouveaux xanthophylles qu'ils nomment ipomoéaxanthines : β -carotène (10,5%), époxy-5,8- β -carotène (6,5%), biépoxy-5,8;5',8'- β -carotène (40,5%), époxy-5',8'- β -cryptoxanthine (10,5%), biépoxy-5,8;5',8'- β -cryptoxanthine (5,5%), auroxanthine (2,2%), néoxanthine (4,5%), ipomoéaxanthine A (3,2%), ipomoéaxanthine B (0,5%), ipomoéaxanthine C1 (2,5%) et ipomoéaxanthine C2 (2,5%). Si on suppose que ce cultivar présente en moyenne 35% de matière sèche (KONARC, 2009) et que la concentration en caroténoïdes totaux est de 3,1 mg/100gMS, les teneurs pour le caroténoïde majeur seraient d'environ 0,44 mg/100gMF. En ce qui concerne le β -carotène-5,6-monoépoxyde, il serait présent avec un maximum de 0,2 mg/100gMF (K'osambo *et al.*, 1998).

Les valeurs présentées par Takahata *et al.* (1993) paraissent assez surprenantes comparées aux autres études et une des rares différences avec les autres protocoles d'extraction est la durée (12h), quand la plupart ne durent que 5 min. Cependant ceci explique difficilement les valeurs relevées qui correspondent à la moyenne de deux ou plusieurs valeurs pour des injections d'extraits issus de deux ou plusieurs racines différentes. La valeur maximum de 26,5 à laquelle est appliqué l'écart-type se transforme en intervalle allant de 17,3 à 35,6 mg/100gMF.

Au CIP, sur 182 cultivars appartenant au programme d'amélioration des teneurs en caroténoïdes, les teneurs des accessions seraient comprises entre 8 et 14 mg/100gMF et seraient désormais disponibles pour distribution (Gruneberg *et al.*, 2006). De plus, ces auteurs mettent au point l'utilisation de la Spectrométrie du Proche InfraRouge (SPIR) pour la prédiction des teneurs, permettant ainsi de très larges criblages. Ces criblages portant sur l'importante collection du CIP, mais aussi sur de nombreux hybrides régulièrement créés. Cependant, ces auteurs expriment leurs valeurs en mg/100gMS, ce qui rend les comparaisons difficiles. Ils annoncent néanmoins un maximum de 100 mg/100gMS de β -carotène (correspondant grossièrement à des valeurs très élevées de 30 mg/100gMF).

Un nombre impressionnant de variétés existent et la liste des caroténoïdes présentée ici ne peut être considérée comme exhaustive. On peut également noter que d'autres caroténoïdes ont été recensés, mais qu'ils l'ont été sur des matières végétales ayant subi des processus de transformation et où ils sont présents en faibles quantités.

Définition de l'idéotype

Au Sud des Etats-Unis, la culture de la patate douce est importante (USDA, 2000). Plus de 75% des patates douces américaines sont produites en Alabama, Louisiane, Mississippi et Caroline du Nord. Cette espèce est de ce fait l'objet de nombreuses recherches en termes d'amélioration génétique, plus particulièrement à l'université de l'état de Caroline du Nord (NCSU). Les filières de transformation exigent des cultivars dont la racine est uniforme, c'est à dire bien adaptée à une récolte et à différentes mécanisations. Ce sont vraisemblablement ces contraintes qui mènent l'amélioration des cultivars à être particulièrement lente mais exigeante, aux Etats-Unis.

La variété *Jewel* a dominé le commerce nord-américain pendant plus de 20 ans. A partir des années 80, elle est devenue la référence pour le marché du frais, notamment grâce à d'excellentes propriétés organoleptiques, une couleur de chair et de peau orange foncé, une forme adéquate et une certaine facilité de multiplication (Islam *et al.*, 2007). D'autres variétés sont aussi cultivées alternativement, telles que *Beauregard*, *Hernandez*, *Goldstar* ou *Darby*. Elles présentent des caractères intéressants en termes de résistances, de précocité ou d'adaptation et

sont préférées à *Jewel* dans certains environnements. Cependant, toutes ces variétés ont une chair orange, caractère incontournable et très apprécié des consommateurs (USDA, 1981).

Manioc

Il existerait chez cette espèce une corrélation entre les teneurs en caroténoïdes totaux et la diminution ou le retard de détérioration physiologique post-récolte après sept jours (Sánchez *et al.*, 2006). Ceci indique que les variétés de manioc à racine jaune, en plus d'être meilleures pour la santé, se conserveraient en meilleur état plus longtemps. Ces variétés possèderaient au moins des α - et β -carotènes (Engleberger *et al.*, 2003d ; Ceballos, 2006) bien que Lako *et al.* (2007) n'aient pas détecté d' α -carotènes chez les deux cultivars à chair jaune qu'ils ont étudié, et il en est de même pour les lycopènes. D'autres études montrent également la présence de lutéine (Ceballos, 2006). Généralement, les caroténoïdes majoritairement rencontrés chez le manioc jaune sont le *all-trans*- β -carotène et ses deux *cis*-isomères en positions 13 et 9 (Kimura *et al.*, 2007).

En Inde, au CTCRI, une étude a montré une variation des caroténoïdes totaux de 0,166 à 1,363 mg/100gMF et une quantité d' α -carotènes allant de 0,054 à 0,884 (Thushara *et al.*, 2006). Des cultivars de l'IITA au Nigéria ont été analysés et affichent des teneurs allant jusqu'à 0,40 mg/100gMF (Agbage *et al.*, 2007 ; Thakkar *et al.*, 2009). Une autre étude menée en Colombie sur la collection internationale du CIAT (5500 accessions) présente pour un échantillonnage représentatif de 632 cultivars des teneurs en β -carotène allant de 0,2 à 2,55 mg/100gMF, qui sont considérées comme très élevées pour l'espèce (Iglésias *et al.*, 1997). D'après Sánchez *et al.* (2006), à partir d'une centaine de cultivars en provenance de cette même collection, des cultivars contiendraient des concentrations de 0,02 à 0,77 mg/100gMF. Par contre, toujours sur cette collection, les premiers résultats présentés par le programme *HarvestPlus* (Ceballos, 2006a) montrent parmi les 2500 accessions analysées des teneurs maximales très élevées (1,74 mg/100gMF). Ces différences impressionnantes pourraient être liées aux méthodes d'analyses. Quant au clone UnB400 cultivé par les amérindiens brésiliens, sa racine contiendrait environ 0,5 mg/100gMF, ce qui correspond au moins au quart des teneurs relevées chez la tomate (Nassar *et al.*, 2007b) mais ce clone contenant du lycopène serait le seul connu à ce jour et ce résultat est donc à prendre avec précaution. Toutefois, des clones présentant à la fois de fortes teneurs en caroténoïdes, de faibles concentrations en composés cyanogéniques et d'excellentes propriétés organoleptiques ont bien été identifiés (Okon and Abraham, 2006).

Aracées

Chez le taro à chair jaune, la présence de β -carotènes a été relevée chez quelques cultivars (Bradbury and Holloway, 1988 ; Huang *et al.*, 2007 ; Lako *et al.*, 2007). Lako *et al.* (2007) n'ont détecté, pour les deux cultivars étudiés, ni α -carotène, ni lycopène. Il existe néanmoins très peu de données qualitatives disponibles et réalisées sur une collection représentant une large prospection géographique. Pour le macabo à chair jaune clair, la présence de β -carotènes a également été mise en évidence avec des teneurs faibles alors que les seules données disponibles pour l'alocase mettent en avant l'absence de β -carotènes (Bradbury and Holloway, 1988). Le taro géant des marais (*Cyrtosperma chamissonis*) contiendrait de très faibles quantités de β -carotènes, pour les variétés à corne jaune, ainsi que des α carotènes et des lutéines. Les zéaxanthines semblent quasiment absentes (Bradbury and Holloway, 1988; Englberger *et al.*, 2003c, 2003d).

L'étude de trois cultivars de taro taïwanais, indique des teneurs en β -carotène variant de 74,4 à 93,6 $\mu\text{g}/100\text{gMS}$ (Huang *et al.*, 2007). Pour *C. chamissonis*, les β -carotènes varient entre 0,33 et 2,04 mg/100g de matière fraîche, les α -carotènes entre 0,2 et 0,83 et les lutéïnes entre 0,04 et 0,15 (Englberger *et al.*, 2003c, 2003d). En fait, très peu de données sont disponibles sur les compositions et teneurs des aracées consommées.

Ignames

En ce qui concerne les cultivars d'ignames à chair jaune, l'espèce *D. alata* contiendrait essentiellement du β -carotène et des xanthophylles en concentrations variables. Chez *D. cayenensis*, ce sont également des β -carotènes qui sont trouvés en majorité, mais accompagnés d'esters de xanthophylles. Les pigments responsables de la couleur jaune de *D. bulbifera* ne seraient pas des β -carotènes mais des xanthophylles, supposés être de la lutéïne. Enfin, des β -carotènes auraient été trouvés chez *D. esculenta* (Martin *et al.*, 1974 ; Bradbury and Holloway, 1988). Lako *et al.* (2007) indiquent cependant que chez deux cultivars de *D. alata*, deux de *D. esculenta* et un de *D. nummularia*, ils n'ont détecté ni β -carotène, ni lycopène, ni α -carotène. Le *D. alata* contiendrait des carotènes à hauteur de 6 mg/100g, que l'on peut vraisemblablement considérer comme des caroténoïdes totaux (Ruberte, 1975). Bradbury et Holloway (1988) donnent des valeurs pour *D. alata* et *D. esculenta* en μg d'équivalent rétinol pour 110gMF, respectivement de 0,018 et 0,017. Enfin, Gouado *et al.* (2007) trouvent dans des cultivars de *D. bulbifera* à chair blanche des teneurs maximum en α -carotène, β -cryptoxanthine et zéaxanthine respectivement de 7,37, 94,47 et 59,9 $\mu\text{g}/100\text{gMF}$, alors que le cultivar à chair foncée contient nettement moins de ces trois composés mais 10,92 $\mu\text{g}/100\text{gMF}$. Notons cependant que leurs extraits n'ont pas subi de saponification. Chez l'igname blanche de Guinée (*D. rotundata*), Jaleel *et al.* (2008) relèvent par spectrophotométrie des teneurs très élevées en caroténoïdes et xanthophylles totaux, respectivement variant entre 100 et 250 mg/100gMF (entre 45 et 90 jours après germination) et entre 90 et 270 mg/100gMF (entre 45 et 75 jours).

1.5 Autres facteurs affectant les compositions

Mis à part le génotype (Agbaje *et al.*, 2007 ; Kimura *et al.*, 2007), d'autres facteurs affectent les compositions et teneurs en caroténoïdes:

- le stade de maturité (Liu *et al.*, 2009),
- les conditions pédoclimatiques de culture (Nordbotten *et al.*, 2000 ; Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008),
- les périodes de culture (Liu *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008),
- la manipulation pendant et après la récolte ainsi que les conditions de conservation (Erturk and Picha, 2007, Sánchez *et al.*, 2006),
- la partie de la plante consommée (Lako *et al.*, 2007), et
- la transformation et la préparation culinaire (Chávez *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2008).

De ce fait, l'intérêt réel pour la santé en termes d'apport alimentaire est très difficile à évaluer mais nous allons néanmoins tenter de synthétiser les données disponibles.

En ce qui concerne la variabilité intra-clonale, c'est-à-dire entre deux racines d'un même plant de patate douce, par exemple, elle n'a jamais vraiment été discutée. Quand les valeurs présentées sont des moyennes de plusieurs mesures correspondant à des analyses d'extraits issus de racines différentes, l'intervalle de confiance peut donner une idée de la variabilité intra-clonale

(Takahata *et al.*, 1993). Cependant, cet intervalle représente la variabilité biologique certes, mais aussi celle induite par l'analyse, la variabilité technique (par exemple, par les protocoles de préparation, de conservation des échantillons, d'extraction, d'analyse... etc.). Comme exemple extrême, un cultivar étudié par Takahata *et al.* (1993) présente une moyenne de 5,5 mg/100gMF avec écart type de 16,9 donnant donc un intervalle de [-11,4 à 22,4].

Pour ce qui est de la variabilité des teneurs entre les différentes parties de la racine, très peu d'études existent. Ezell et Wilcox (1946) montrent que la concentration en carotènes dans la partie proximale serait trois fois supérieure à celle observée dans la partie distale d'une même racine de patate douce. Cependant, de Almeida-Muradian *et al.* (1992) n'observent pas de changement significatif de couleur, mesurée avec un chromamètre, entre les parties proximale, centrale et distale.

Une des études résumant bien la situation chez le manioc (*M. esculenta*) est celle d'Okon et Abraham (2006). Ils ont étudié les variations des teneurs entre plants d'un même clone, entre différentes racines d'un même plant et entre différentes parties d'une même racine. Les résultats montrent que les teneurs importantes en caroténoïdes sont pratiquement stables. Ceci est légèrement nuancé par la synthèse présentée par le programme *HarvestPlus*. En effet, au sein de la partie consommée, un gradient décroissant des teneurs serait observé du centre de la racine vers la peau (4,1 à 3,5 μg) mais aussi de la partie proximale vers la partie distale de la racine (4,1 à 3,7 μg) (Ceballos, 2006).

En ce qui concerne la variabilité ontogénique de la patate douce, Ezell *et al.* (1952) montrent que les concentrations en carotènes varient en fonction de l'âge de la culture. En prélevant à trois, quatre, cinq et six mois après plantation, K'osambo *et al.* (1998) observent que si les compositions restent inchangées pour les six caroténoïdes majeurs, l'évolution dans le temps des concentrations en carotènes totaux est dépendante du cultivar. Certains cultivars triplent quasiment leurs concentrations entre le 3^{ième} et le 4^{ième} mois, alors que d'autres ont déjà 2/3 de leur concentration maximale au 3^{ième} mois. De plus, selon les cultivars, l'accumulation des caroténoïdes atteint un maximum après des durées de culture différentes. Les concentrations de variétés à faibles teneurs en caroténoïdes, continueraient à augmenter jusqu'à six mois. Néanmoins, pour tous les cultivars, les teneurs en caroténoïdes sont plus faibles, à une date de récolte inférieure à trois mois. Plus récemment, Chattopadhyay *et al.* (2006) ont montré que pour trois temps de récolte différents, soit 90-105-120 jours après plantation, les concentrations en β -carotène augmentent entre 90 et 105 jours jusqu'à un maximum à partir de 105 jours.

La période de récolte influencerait également sur les teneurs en caroténoïdes de la patate douce (*I. batatas*). Même si le *all-trans*- β -carotène est toujours le caroténoïde majeur, la composition comme les teneurs varient selon la période du mois de récolte (janvier, avril, juillet ou octobre à Taïwan). Au sein des deux variétés évaluées, les isomères du β -carotène sont toujours supérieurs en concentration aux isomères de l' α -carotène. La variété à chair orange contiendrait plus d'isomères en *trans* qu'en *cis*, alors que c'est l'inverse pour la variété jaune, et ce indépendamment de la saison de récolte. (Liu *et al.*, 2009). Enfin, d'après Manrique et Hermann (2000), des variations seraient observées selon l'altitude. Les teneurs en caroténoïdes augmentent avec l'altitude tout en étant dépendante de la variété.

Chez l'igname de Guinée blanc (*D. rotundata*) les teneurs en caroténoïdes et xanthophylles varieraient de façon importante au cours de la croissance. Les auteurs montrent des variations allant du simple au double entre 45 et 90 jours après germination pour les

caroténoïdes totaux, alors que pour les xanthophylles, ils passeraient du simple au triple entre 45 et 75, puis redescendraient à environ la moitié à 90 jours (0,9-2,7-0,5). Il aurait même été observé de légères augmentations des teneurs en caroténoïdes et xanthophylles totaux en relation avec le traitement avec des fongicides de type triazole (triadimefon, TDM et hexaconazole, HEX) à tous les stades de croissance (Jaleel *et al.*, 2008).

1.6 Les contraintes liées aux objectifs des programmes actuels

Mis à part les travaux qui portent sur la collection de patate douce du CIP et la collection de manioc du CIAT, les études portant sur la variabilité intra-spécifiques des caroténoïdes ne concernent qu'un nombre limité de cultivars (Lako *et al.*, 2007 ; Englberger *et al.*, 2003c, 2003d) et ne sont pas représentatives de l'ensemble de la variabilité existante chez les autres espèces. Ces carences reflètent aussi l'absence de réel programme d'amélioration pour les caroténoïdes chez les *Araceae* et les *Dioscoreaceae*. Si le problème est reconnu et que les solutions sont unanimement encouragées, c'est surtout par la distribution directe de clones existants qu'elle est envisagée dans les pays du Sud. A l'IITA, la volonté affichée est de promouvoir des recherches sur la compréhension des relations entre chimiotypes et variabilité en termes de qualité des produits. Aux Etats-Unis de nombreux hybrides de patate douce sont sélectionnés tous les ans et des variétés riches en caroténoïdes sont créées (Teow *et al.*, 2007). Néanmoins, l'objectif n'est pas l'amélioration des teneurs et compositions en caroténoïdes, ni même l'amélioration de la couleur de la chair. L'objectif est de satisfaire un marché important et donc les hybrides doivent ressembler à l'idéotype américain.

Au vu du nombre de facteurs pouvant influencer les teneurs et composition en caroténoïdes, il est difficile de se faire une idée du potentiel d'amélioration génétique pour ces composés. Les diverses études donnent une bonne image de la situation pour certaines espèces et des points de repères pour d'autres qui restent beaucoup moins bien étudiées. Mais ces études sont souvent réalisées dans des conditions environnementales variées et des protocoles différents. Certaines de ces valeurs datent parfois de plus de vingt ans et donc, les techniques et le matériel végétal ont évolué et de nombreuses données sont manquantes ou difficilement comparables.

2. Mise en évidence d'opportunités pour la biofortification

Afin d'apporter aux sélectionneurs des éclaircissements quant aux méthodes d'amélioration à adopter, ainsi que des informations utiles au développement des stratégies alimentaires, il est nécessaire de cerner la variabilité des compositions et des teneurs en caroténoïdes aux niveaux inter- et intra-spécifique. Cet article soumis à *Journal of Food Composition and Analysis* (05/05/2009) s'attache donc à explorer la variabilité au sein de chimiotypes de cultivars des principales espèces de RT consommés au Vanouatou. Les principaux objectifs sont :

- d'optimiser une méthode pour l'étude rapide et fiable de ces composés pour dix espèces,
- de mesurer l'étendue de la variabilité en caroténoïdes dans les collections, et enfin
- de produire des données utilisables par les sélectionneurs locaux pour définir leurs stratégies.

En l'absence d'études satisfaisantes, ceci est particulièrement important pour des espèces d'intérêt socio-économique local comme la grande igname ou le taro pour lesquelles de larges prospections sont nécessaires afin d'avoir une évaluation représentative de la variabilité.

Carotenoid Profiling of Tropical Root Crop Chemotypes from Vanuatu, South Pacific

Antoine Champagne ^{a,*}, Stéphane Bernillon ^{b,d}, Annick Moing ^b, Dominique Rolin ^c, Laurent Legendre ^a, Vincent Lebot ^e

^a *Laboratoire de Biotechnologies Végétales appliquées aux Plantes Aromatiques et Médicinales, UJM, 23 rue Dr Paul Michelon, 42023 Saint-Etienne cedex 2, France*

^b *Institut National de la Recherche Agronomique, UMR619 BF, 91, avenue E. Bourlaux, Villenave d'Ornon, France*

^c *Université de Bordeaux 2, UMR619 BF, 91, avenue E. Bourlaux, Villenave d'Ornon, France*

^d *Pôle Métabolome-Fluxome - IFR103 BVI, 91, avenue E. Bourlaux, Villenave d'Ornon, France*

^e *Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement - Vanuatu, UR 75, BP 946, Port-Vila, Vanuatu, South Pacific*

* Corresponding author. Tel.: +33-557-122-546; fax: +33-557-122-541.

E-mail adress: champagne_antoine@hotmail.com (A. Champagne)

Abstract

Tropical root and tuber crops are staple foods in developing countries where they represent the main source of carbohydrates and a potential source of secondary metabolites as carotenoids. Enhancing carotenoid content bears great potential for improving human nutrition in such areas. Except for cassava and sweet potato, this parameter has never been evaluated on large germplasm collections. We describe a simple HPLC-DAD-based protocol for the reliable characterization of carotenoids in root crops. Less than 5% variation in carotenoid content was found among samples collected on tubers of the same plant or on clones of the same genotype. Carotenoids were then evaluated on 153 accessions representing ten different species. Each species presented a specific blend of carotenoids and accessions of the same species differed greatly in their individual content. The database assembled during this study represents a useful tool for nutritionists and breeders working on root crops carotenoids biofortification.

Keywords: Agrobiodiversity, Aroids, Cassava, HPLC-DAD, Carotenoids, Food composition, Sweet potato, Yams

1 Introduction

Root and tuber crops are among the most important staple foods in developing countries, particularly in Melanesia where the yearly consumption per habitant is among the highest in the world. Because of fast demographic growth, there is an urgent need to improve staple food production and quality. Tropical root and tuber crops represent the major source of carbohydrates and all, or part, of the recommended daily intake of certain micronutrients such as pro-vitamin A (Van Jaarsveld *et al.*, 2005). In Melanesia and in Vanuatu in particular, local cultivars also play fundamental socio-cultural roles through traditional exchanges. This has generated a large diversity of cultivars, that is particularly noticeable for the two most important crops, taro (*Colocasia esculenta* Schott) and the greater yam (*Dioscorea alata* L.), but is also remarkable for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)

In spite of their local importance, tropical root crops are under-researched with insufficient characterization of their micronutrients, especially of their carotenoid composition and content. More than 750 different natural carotenoids have been identified among diverse range of bio organisms (Britton *et al.*, 2004). Out of the fraction that has been found in food products, only cyclic ones exhibit an unsubstituted β -ring and are precursors of vitamin A. A deficiency in vitamin A can lead to blindness and is a serious public health problem in developing countries, particularly in Africa. Regarding the Pacific atoll islands, serious problems of vitamin A deficiency have been underlined since lifestyle change (Englberger *et al.*, 2008).

Due to limited agricultural resources, there is a need to identify good sources of provitamin A among locally grown staple foods. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) and cassava (*Manihot esculenta* Crantz) carotenoids have been documented in South America and Africa (Hagenimana *et al.*, 1999; K'osambo *et al.*, 1998; Iglesias *et al.*, 1998). It has been established that several varieties, especially the orange-fleshed ones, could raise daily intake in pro-vitamin A to recommended levels (Hagenimana *et al.*, 1999; Sthal & Sies, 2005). Human health benefits have also been related to non-provitamin A carotenoids. Lutein and zeaxanthin are found in the macula area of the human retina and are associated with a reduced risk of age-related degeneration (Mares *et al.*, 2006). More generally, natural carotenoids protect the skin from damaging solar radiation and reduce the risk of developing certain cancers (Sthal & Sies, 2005). Carotenoids also exhibit antioxidant properties and regular consumption of fresh plant product has been proven to bring numerous health benefits. Their particular molecular structures lead to physical quenching of $^1\text{O}_2$ which leaves the structure intact and requires no regenerating reaction after reduction as other antioxidants do (Miller *et al.*, 1996; Sies & Sthal, 1995; Stanner *et al.*, 2004). Carotenoids have such a beneficial impact on human health, that staple food biofortification has the potential to play a key role in health improvement programs.

Worldwide, there are several breeding programs for potato, cassava and sweet potato but very limited breeding is done for other tropical root crops, aroids and yams. However, the diversity and genetic potential of these neglected species are very important to support burgeoning populations and to improve health through enriched diets. Genetic improvement is based on the selection of phenotypes on their *per se* value. The identification of parents with complementary traits, their recombination and the subsequent screening of large progenies are required to identify hybrids with improved traits. Consequently, breeders need sustainable and well-designed technologies as well as reliable data to select the most suitable progenitors and progenies. The limited knowledge available on most tropical root crops secondary metabolites is a serious constraint. Moreover, in some tropical countries, such as those of the South Pacific, edible aroids (e.g., *C. esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott), and yams (*Dioscorea* spp.) are more important than in other developing countries where cassava (*M. esculenta*) is usually the main root crop. The traditional selection system practiced by local farmers is based on attractive and palatable chemotypes and has generated tremendous diversity which deserves to be studied and characterized.

The aim of the present study is to assess the interspecific variability of ten root crop species grown in Vanuatu, namely: sweet potato (*I. batatas*), cassava (*M. esculenta*), yams (*D. alata*, *D. bulbifera* L., *D. esculenta* L., *D. cayenensis* Lam., *D. pentaphylla* L.), taro (*C. esculenta*), macabo (*X. sagittifolium*) and giant taro (*Alocasia macrorrhiza* (L.) Schott). This study is the first germplasm screening from Vanuatu and Melanesia for carotenoids and is carried

out in order to: i) develop protocols for the rapid and reliable quantification of these molecules, ii) assess the extent of variation observed in carotenoid composition and content, and iii) establish a composition database to be used in genetic improvement programs.

Table 1. Summary of passport data on 153 accessions[#] from ten species analyzed in this study

Sp.	Name	Acc.	Isle	F.C.	Sp.	Name	Acc.	Isle	F.C.
<i>Ce</i>	tarapotan	1191	San	6	<i>Db</i>	—	620		2
<i>Ce</i>	muleroron	1196	San	5	<i>Db</i>	buewu reureu	1009	Mal	2
<i>Ce</i>	singom	1274	Tan	2	<i>Db</i>	reureu susu	1011	Mal	7
<i>Ce</i>	biak nawé	1558	Epi	5	<i>Db</i>	buewu koru	1032	Mal	2
<i>Ce</i>	aboï	1656	Ary	5	<i>Db</i>	pevu takar	1146	San	7
<i>Ce</i>	tsinon témémé	1697	Pen	4	<i>Db</i>	sera matou	1289	Tan	7
<i>Ce</i>	clément	1706	Pen	7	<i>Db</i>	sera ouless	1290	Tan	2
<i>Ce</i>	bwet métakas	1713	Pen	3	<i>Db</i>	navoup	1368	Ero	2
<i>Ce</i>	lokonaoundi	1813	Abe	3	<i>Db</i>	navoup nou	1369	Ero	7
<i>Ce</i>	bouléï	1888	Abe	4	<i>Db</i>	navoup télouo	1399	Ero	1
<i>Ce</i>	warogaï tagaro	1895	Abe	12	<i>Db</i>	napow wes	1451	Mka	2
<i>Ce</i>	worogaï kété	1914	Abe	17	<i>Db</i>	napow miël	1487	Mka	7
<i>Ce</i>	—	ID 280		2	<i>Db</i>	nabongbong	1529	Epi	7
<i>Ce</i>	—	ID 83		2	<i>Db</i>	oinokon planté	1603	Ary	2
<i>Ce</i>	—	TH 1		7	<i>Dbb</i>	navoup melana	And19	Ero	7
<i>Ce</i>	pora lo mapuro	202	San	7	<i>Dbb</i>	—	620		2g
<i>Ce</i>	pora loma puro	203	Mka	7	<i>Dbb</i>	buewu reureu	1009	Mal	2g7
<i>Ce</i>	pet rara	210	Mka	6	<i>Dbb</i>	reureu susu	1011	Mal	7
<i>Ce</i>	james	268	San	6	<i>Dbb</i>	buewu koru	1032	Mal	2g
<i>Ce</i>	majina	280	San	2	<i>Dbb</i>	pevu takar	1146	San	7
<i>Ce</i>	samsin ret	37	Pen	7	<i>Dbb</i>	sera matou	1289	Tan	2g
<i>Ce</i>	—	59	Pen	1	<i>Dbb</i>	navoup	1368	Ero	7
<i>Ce</i>	arume	74	San	37	<i>Dbb</i>	navoup nou	1369	Ero	2g
<i>Ce</i>	oroï tas	124	San	3	<i>Dbb</i>	napow wes	1451	Mka	2g
<i>Da</i>	tumas ambrym	1005	Mal	71	<i>Dbb</i>	napow miël	1487	Mka	7
<i>Da</i>	viabulu	1022	Mal	7	<i>Dbb</i>	nabongbong	1529	Epi	5
<i>Da</i>	baloï boï	1042	Mal	5	<i>Dbb</i>	oinokon planté	1603	Ary	2g
<i>Da</i>	bebeï	1045	Mal	4	<i>De</i>	suru wae-rave	1028	Mal	4
<i>Da</i>	tarpotono	1181	San	17	<i>De</i>	tawakara	1179	San	4
<i>Da</i>	ross	1286	Tan	5	<i>De</i>	tawa mulmuli	1180	San	7
<i>Da</i>	nawanorik	1316	Tan	7	<i>De</i>	ouvléï telouo	1401	Ero	41
<i>Da</i>	sinoua miël	1447	Mka	6	<i>De</i>	ndravrouk	1450	Mka	4
<i>Da</i>	nil pareï	1484	Mka	1	<i>De</i>	parav uwiret	1509	Mka	1
<i>Da</i>	ravar rarh	1498	Mka	2	<i>De</i>	parav mend pin	1514	Mka	41
<i>Da</i>	nakraï perh	1505	Mka	5	<i>De</i>	toro batcha	1544	Epi	4
<i>Da</i>	viten tapili	1623	Ary	5	<i>De</i>	raman ately	1642	Ary	4
<i>Da</i>	nihna tchig	1986	Van	4	<i>De</i>	boulmet niaï	1691	Ary	41
<i>Da</i>	maravovo	1989	Van	4	<i>Dc</i>	—	749	Tan	2
<i>Da</i>	salemanu waet	11		1	<i>Dc</i>	waelu lulu	1012	Mal	1
<i>Da</i>	vitibergbak	2		17	<i>Dc</i>	wailou méliang	1385	Ero	2
<i>Da</i>	bughi toa	373		17	<i>Dc</i>	wailou yellow	1689	Ary	2
<i>Da</i>	awe	407		71	<i>Dp</i>	hipo	1150	San	1
<i>Da</i>	viripoa	485		4	<i>Dp</i>	telouo noup	1384	Ero	1
<i>Da</i>	salemanu ret	Sal R	Efa	4	<i>Dp</i>	rapor lilil	1436	Mka	1

(table continued)

(table continued)

<i>Ib</i>	Hybrid line	16		3	<i>Me</i>	—	7		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	Ply20		1	<i>Me</i>	—	8		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	Chp28		14	<i>Me</i>	—	17		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	Rv30		1	<i>Me</i>	—	20		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	59		24	<i>Me</i>	Hybrid line	Hyb31		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	71		3	<i>Me</i>	Hybrid line	Hyb32		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	171		1	<i>Me</i>	kari	1055	Mal	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	78		37	<i>Me</i>	tamatsina	1145	San	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	104		14	<i>Me</i>	raïri	1151	San	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	110		16	<i>Me</i>	—	1155		2
<i>Ib</i>	Hybrid line	120		3	<i>Me</i>	kari	1310	Tan	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	Gv129		24	<i>Me</i>	noulngon mori	1357	Ero	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	133		2	<i>Me</i>	kari	1390	Ero	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	147		1	<i>Me</i>	naï tom poun	1391	Ero	1
<i>Ib</i>	Hybrid line	156		237	<i>Me</i>	napound wes	1424	Mka	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	157		27	<i>Me</i>	kari mahioko	1519	Epi	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	159		3	<i>Me</i>	kari	1609	Ary	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	161		23	<i>Me</i>	yellow maniok	1771	Pen	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	162		1	<i>Me</i>	kari	1864	Abe	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	165		17	<i>Me</i>	kari 2	1880	Abe	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	180		3	<i>Me</i>	maïok ngoïngoï	1955	Van	2
<i>Ib</i>	lokol waneittri	183		2	<i>Me</i>	kouï kouï	1991	Van	2
<i>Ib</i>	Hybrid line	Si226		26	<i>Am</i>	VU 5	5		1
<i>Ib</i>	latsmoli	1164	San	37	<i>Am</i>	VU 6	6		1
<i>Ib</i>	—	1306	Tan	37	<i>Am</i>	VU 8	8		1
<i>Ib</i>	blanche 2	1432	Mka	1	<i>Xs</i>	VU 1	1		1
<i>Ib</i>	blanche 3	1433	Mka	17	<i>Xs</i>	VU 3	3		4
<i>Ib</i>	kumala bom	1531	Epi	2	<i>Xs</i>	VU 4	4		4
<i>Ib</i>	ral touto	1665	Ary	37	<i>Xs</i>	VU 5	5		1
<i>Ib</i>	kumala 2	1745	Pen	16	<i>Xs</i>	VU 7	7		4
<i>Ib</i>	woan manis	1877	Abe	23	<i>Xs</i>	VU 8	8		4
<i>Ib</i>	daïtari	1891	Abe	1	<i>Xs</i>	VU 9	9		4
<i>Ib</i>	—	bankis	Van	23					

Sp.) Species (*Am*: *A. macrorrhiza*, *Ce*: *C. esculenta*, *Da*: *D. alata*, *Db*: *D. bulbifera*, *Dbb*: *bulbil* of *D. bulbifera*, *Dc*: *D. cayenensis*, *De*: *D. esculenta*, *Dp*: *D. pentaphylla*, *Ib*: *I. batatas*, *Me*: *M. esculenta*, *Xs*: *X. sagittifolium*).

Acc.) Identification of the accession.

Isle) Island of origin (Abe: Ambae, Ary: Ambrym, Efa: Efate, Epi: Epi, Ero: Erromango, Mal: Malo, Mka: Malakula, Pen: Pentecost, San: Espiritu Santo, Tan: Tanna, Van: Vanua Lava).

F.C.) Flesh Color code (1: white, 2: yellow, 3: orange, 4: pink, 5: red, 6: red violet, 7: purple, g: green, several figures mean several colors, e.g.: 2g7 = yellow-green-purple).

#) Excepted ID 280 and ID 83 which are from Indonesia, and TH 1 from Thailand, all cultivars are from Vanuatu.

2 Materials and Methods

2.1 Growing conditions and sample preparation

Cultivars have been selected from various collections made during TANSOA (TAro Network for South Asia and Oceania), SPYN (South Pacific Yams Network), and RCAPV (Root Crops Agrobiodiversity Project in Vanuatu) projects, as well as from hybrid lines developed at the Vanuatu Agricultural Research and Technical Centre (VARTC, Espiritu Santo). All accessions are presently maintained in the national germplasm collection.

All varieties were grown within the same plot (VARTC, Espiritu Santo, 15°23'S 166°51'E) to minimize variations due to environmental factors. They were planted at the same time and their storage organs harvested when fully mature to avoid variation due to ontogeny. A core-sample of 153 accessions was assembled to represent the full range of the phenotypic flesh color variation of the storage organs (corms, cormels, roots, tubers). Overall, roots of 33 *I. batatas* cultivars (cvs), tubery roots of 22 *M. esculenta* cvs, tubers of 20 *D. alata* cvs, tubers of 14 *D. bulbifera* cvs, aerial tubers (bulbils) of 13 *D. bulbifera* cvs, tubers of 10 *D. esculenta* cvs, tubers of 4 *D. cayenensis* cvs, tubers of 3 *D. pentaphylla* cvs, corms of 24 *C. esculenta* cvs, cormels of 7 *X. sagittifolium* cvs and corms of 3 *A. macrorrhiza* cvs were selected. Passport data characterizing each accession are presented in Table 1.

The storage organs were washed, peeled under water and their surface quickly dried on a towel. Roots were cut longitudinally and then transversally in two equal parts of about 200 g of fresh weight (FW). Material was grated using a cheese grater. Half was sealed in zip-lock plastic bags and stored at -20°C overnight. Frozen material was freeze-dried with a TELSTAR Cryodos -50 (Terrassa, Spain) for two days. Dried material was kept in paper bags enclosed in black polyethylene sealed bags at -20°C until analyzed. Every step of the procedure took place in a dark room to prevent photo-oxidation.

The moisture content of the samples was determined on the other half of the sample (100 g) by drying it in a ventilated oven at 60°C until constant weight (about seven days).

2.2 Reagents and standards

Acetone, methanol and hydrochloric acid were purchased from VWR Int. (Fontenay-Sous-Bois, France). *Tert*-butyl-methyl ether, ammonium acetate, sodium hydroxide, anhydrous sodium sulphate, ethyl acetate and trishydroxyméthylaminométhane (Tris) were purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). Ethyl ether was purchased from Cooper (Melun, France), and chloroform from SDS (Peypin, France).

All-*trans*- β -carotene and lutein were obtained from Carotenature GmbH (Lupsingen, Switzerland) and lycopene, from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO). δ -carotene, ϵ -carotene, neurosporene, phytoene and zeaxanthin, were obtained from *Escherichia Coli* harbouring the plasmids pAC-DELTA, pAC-EPSILON, pAC-NEUR, pAC-PHYT and pAC-ZEAX kindly provided by Dr F.X. Cunningham Jr. (University of Maryland, USA). Carotenoids were extracted from bacteria cultures using ethyl ether. α -carotene was extracted from carrots (*Daucus carota* L.) as described in section 2.3.

2.3 Extraction methods

The extraction method was adapted from the procedure described by Rodriguez-Amaya and Kimura (2000). For each step of the protocols, samples have been kept away from light and

maintained at 4°C. A 2-4 g freeze-dried powder sample was homogenized in 10 mL acetone using a polytron Biotrona 6403 (Küssnacht, Switzerland). To ensure full recovery of analytes, knives were rinsed with 5 mL of acetone then the 5 mL pooled with the first 10 mL. The sedimentation of the powder was achieved by centrifugation at 4°C on 3000 g for 10 min. Supernatant was recovered with Pasteur pipette and the extraction process was repeated on pellets. In order to guarantee optimal extraction conditions, the process was established on high-concentrated samples for each species using High-Performance Liquid Chromatography - Diode Array Detector (HPLC-DAD). The optimization of the process was followed by setting the DAD at 460 and 290 nm - for colored and non-colored carotenoids. Generally two to four times were needed to ensure better extraction. Each extract was evaporated to dryness under a nitrogen stream.

Saponification was adapted from the procedure described by Pérez-Gálvez Mínguez-Mosquera (2001). Only *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. pentaphylla* and *D. cayenensis* samples were saponified, because saponification did not modify the chromatographic profiles of the other species. After carotenoid extraction, the dried residue was dissolved in 1 mL of acetone. The solution was placed in a glass tube before adding 3 mL of ethyl ether and 4 mL of 10% (w/v) sodium chloride in water. The tube was vigorously shaken to transfer pigments to the organic phase. The process was repeated once. The organic phases were recovered with Pasteur pipette, and pooled. One mL of 10% KOH in methanol was added to the solution and stirred. The saponification took place at room temperature in the dark for 1 h. Afterwards, 4 mL of 10% (w/v) sodium chloride in water were added, the tube was vigorously stirred and phase separation was accelerated by centrifugation at 4°C, 3000 g, for 1 min. The aqueous phase was discarded and the organic phase washed several times with distilled water. The neutral organic phase was evaporated to dryness under nitrogen stream. The extracts were then dissolved in an adequate volume of ethyl acetate and filtered on a 0.45 µm PTFE filter (C.I.L., Sainte-Foy-La-Grande, France) prior to injection.

α -carotene standard is not stable during transport. It was therefore extracted from fresh carrots (*Daucus carota* L.) purchased from a local market in France. It was difficult to follow the acetone-based extraction procedure used for freeze-dried sample because of the high moisture content of fresh carrots. The methanol-based protocol described by Fraser *et al.* (2000) was thus used on 2 g of FW.

2.4 Analytical methods

Carotenoids were analyzed by HPLC-DAD using the method described by Fraser *et al.* (2000) with modifications. Extracts were separated on a Spectra system (Thermo Finnigan) equipped with a reverse-phase C30 column YMC Inc. (Europe GmbH, Germany), 5 µm, 4.6 x 250 mm. The mobile phases were methanol as eluent A, methanol/ammonium acetate 1% in water (5:1, v:v) as eluent B and *tert*-butyl-methyl ether as eluent C. The injection volume was 50 µL, the flow rate was fixed at 1 mL.min⁻¹ and the column temperature was set at 25°C. The gradient program was performed as follows: initial conditions 0-12 min, 95%A /5%B; 12-12.1 min, to 80%A /5%B /15%C; 12.1-40 min, to 30%A /5%B /65%C; 40-43 min, to 5%B /95%C; 43-46 min, 5%B /95%C; 46-49 min, to 95%A /5%B; and back to the initial conditions for re-equilibration. Carotenoids were monitored between 200 and 800 nm with an UV-visible diode array detector (UV-6000, Thermo Finnigan). Data were collected and processed using

Chromeleon software v.6.60 (Dionex Co., Sunnyvale, USA). Quantification was achieved by external calibration curves made of five carotenoid standard concentrations injected in triplicate. Concentrations were calculated using molar extinction coefficient according to published spectral data (Davies, 1976). Correlation coefficients were between 0.993 and 0.999. When standards were unavailable, they were expressed in all-*trans*- β -carotene or lutein equivalent. An external standard of astaxanthin was injected daily to monitor repeatability of the HPLC analytical separation through changes in retention time and repeatability of the detection through peak area.

2.5 Determination of peak purity

For quantification, purity of carotenoid standards was determined by HPLC-DAD and assured being over 90 % for each standard (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004). Every peak was checked for displaying the same characteristic spectrum at the ascending and descending slopes and at the maximum.

2.6 Data analysis

Provitamin A content was estimated by adding the amounts of all-*trans*- β -carotene, 13-*cis*- β -carotene and 9-*cis*- β -carotene for each cultivar. Retinol Activity Equivalent (RAE) was calculated by dividing provitamin A content by 12.

For specific data sets, coefficients of variation of the mean (CV%) were calculated to provide a normalized estimate of the dispersion of a probability distribution. Relationship between the greater carotenoid and visual determined flesh color code was estimated by calculating Pearson correlation coefficients. Significance was determined using Student's *t*-test.

2.7 Color assessment

A color code ranging from 1 to 7 was attributed to each storage organ at harvest. Colors were assessed visually. The flesh color code was attributed as follow: 1 = white, 2 = yellow, 3 = orange, 4 = pink, 5 = red, 6 = red violet, 7 = purple, g = green, several figures mean the presence of several colors, e.g.: 2g7 = yellow-green-purple.

3 Results

3.1 Reliability of the carotenoid profile assessment protocol

Figure 1A shows a poorly resolved chromatographic profile of *D. bulbifera* (Db 620) like those exhibited by a few species. The presence of carotenoids esters was expected and a saponification step was added after extraction for such samples. After processing saponification, the chromatographic profile of the same *D. bulbifera* sample was improved (see Figure 1B). Only *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. pentaphylla* and *D. cayenensis* samples were saponified, because saponification did not modify the chromatographic profiles of the other species. Regarding on non-colored carotenoids, no change in chromatographic profiles was observed at 290 nm.

Ipomoea batatas extracts were the most colored ones. A mid-colored accession (Ib180) of this species was thus chosen to estimate the reliability of our protocol for assessing carotenoid profiles. The two greater carotenoids of this cultivar were specifically observed. One was all-*trans*- β -carotene and the nature of the other one, which displayed a retention time of 25.1 min and four λ_{\max} at 267, 422(SH), 446 and 473 nm, could not be determined.

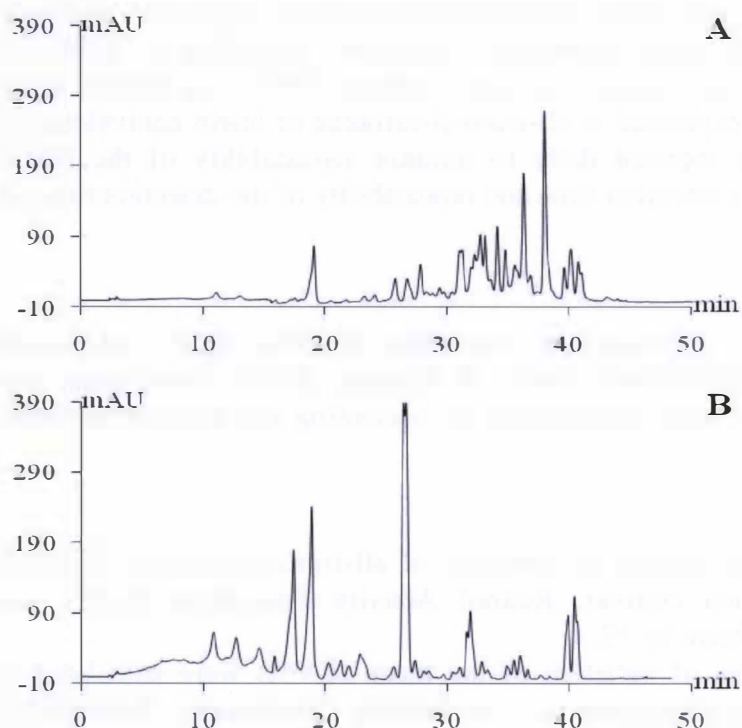


Figure 1. HPLC profiles of carotenoid extract of *Dioscorea bulbifera* (Db 620) without saponification step (A) and after processing saponification (B). The same quantity of dry matter equivalent was injected and detection was made at 460 nm.

Since the samples collected for analysis were only a fraction of a total root, we first estimated the variation in carotenoid content along a given storage organ by comparing the carotenoid content of ten different extractions of flesh collected in separate parts of this tuber (see Table 2). Contents in all-*trans*- β -carotene and in the unknown substance displayed a CV% of 3.5% and 3.6% respectively. These values are small and in the range of those observed while comparing several extracts made on the same dry tuber powder.

Table 2. Carotenoid content variation (CV%) between extracts, roots and plants for *I. batatas* (Ib 180).

Variation	Unknown peak	all- <i>trans</i> - β -carotene
Between ten extractions from a single root	3.6	3.5
Between three roots of a single plant	3.2	4.5
Between ten plants of a single cultivar	3.5	4.2

CV% of the data obtained on the extracts made on three tubers of the same plant were also in the same range, *i.e.*, 4.2% for all-*trans*- β -carotene and 3.5% for the unidentified substance. They were similar to the data obtained on tubers collected from ten separate plants

belonging to the same clone (4.5% for all-*trans*- β -carotene and 3.2% for the unidentified substance).

A similar method of estimating the variability of our measurements was applied to a representative member of each species of our core-sample (chemotypes are described below in section 3.2). CV%*s* were calculated on the carotenoid profiles obtained on three different extracts (see Table 3). Again, relative standard deviations were less than 3.4% on any given carotenoid in any class of chemotype.

It is thus observed that the contents of individual carotenoids found in different parts of the same root, or in different roots of the same plant, or in different roots of different plants of the same clone, are similar (within analytical error) and that any of these values gives a reasonable estimate of an accession carotenoid content and composition within our set of sample species (see Tables 2 and 3).

Table 3. Carotenoid content variation (CV%) between three extracts within species.

Accession	lutein	13- <i>cis</i> - β -carotene	all- <i>trans</i> - β -carotene	9- <i>cis</i> - β -carotene
<i>Ce</i> TH 1		0.1	1.0	0.5
<i>Ce</i> VU 74	3.4		2.7	
<i>Ce</i> Abe 1813	2.3	0.7	0.5	0.2
<i>Ib</i> 71			0.1	
<i>Ib</i> San 1164			3.3	
<i>Ib</i> Abe 1877			0.6	
<i>Me</i> Hyb 31		1.0	1.5	1.4
<i>Me</i> Abe 1880		0.9	1.0	0.1
<i>Me</i> 17	1.5	1.6	1.3	0.6
<i>Me</i> Mka 1519		0.4	0.5	0.2
<i>Db</i> Mka 1487	2.1			
<i>Db</i> Mka 1451	2.7			
<i>Dbb</i> VU620	0.8			

Abbreviations (*Ce*: *C. esculenta*, *Db*: *D. bulbifera*, *Dbb*: aerial tubers (bulbils) of *D. bulbifera*, *Ib*: *I. batatas*, *Me*: *M. esculenta*)

3.2 Characterization of different chemotypes

Assessment of the carotenoid profiles of 153 accessions allowed grouping them into ten different categories, i.e., ten different blends of carotenoids or chemotypes. A chromatogram monitored at 460 nm of one sample of one typical member of each group is shown in Figure 2. Chemotype groups clearly reflected species boundaries, each chemotype being specific of one species. *Ipomoea batatas* (see Figure 2A) had the simplest chemotype with all-*trans*- β -carotene making more than 80% of the detected compounds. *Manihot esculenta* (see Figure 2B) and *C. esculenta* (see Figure 2C) extracts, displayed three major peaks including all-*trans*- β -carotene and two unknown substances and contained minor quantities of lutein. The relative abundance of these substances varied between cultivars. Based on their retention times (27.5 and 31.9 min) and a comparison of their spectral characteristics with those published by Rodriguez-Amaya and Kimura (2000), the two unknown substances are proposed to be *cis*-isomers of β -carotene, 13-*cis*- β -carotene and 9-*cis*- β -carotene.

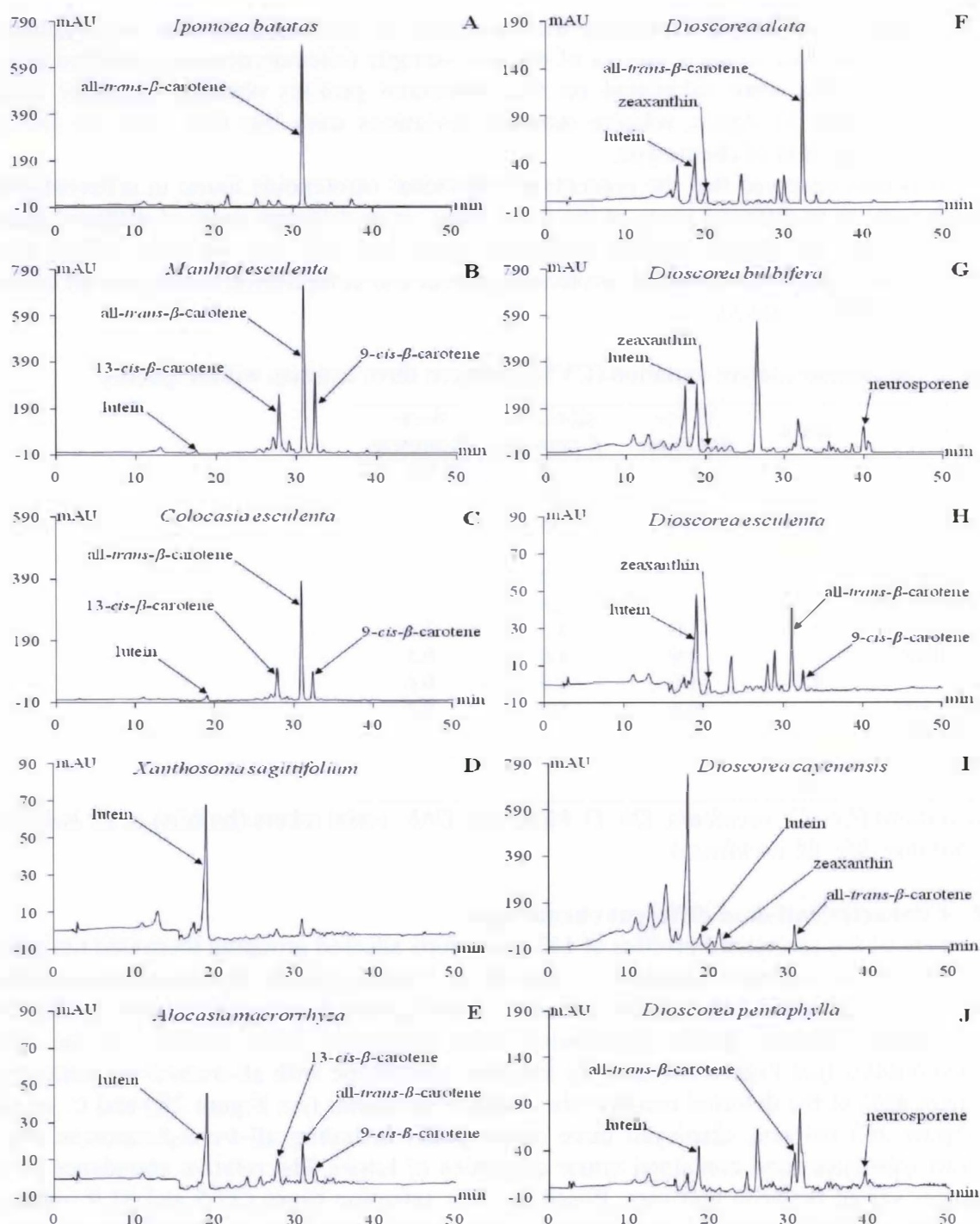


Figure 2. HPLC profiles of ten typical chemotypes of carotenoid extracts of tropical root crop species. Detection was made at 460 nm. The position of identified substances is indicated. Quantity of injected dry matter equivalent (in mg): A = 10, B = 200, C = 200, D = 100, E = 100, F = 100, G = 50, H = 200, I = 200, J = 200.

The lutein, the two *cis*-isomers and the all-*trans*-isomer of β -carotene also made the carotenoid blend detected in *A. macrorrhiza* (see Figure 2E) except that in this species, lutein was the most abundant substance and all-*trans*- β -carotene as well as 9-*cis*- β -carotene were barely detectable in corm whose flesh was beige at best. Similar profiles with a greater peak of lutein were observed in *X. sagittifolium* (see Figure 2D), however β -carotene isomers could not be detected.

Dioscorea species (see Figure 2F-2J) accumulated the greatest diversity of carotenoid substances. Nine major carotenoids were found in *D. bulbifera* (see Figure 2G) including lutein, all-*trans*- β -carotene and neurosporene. Four unknown peaks with lower retention times were thought to be other xanthophylls and were the major carotenoids of *D. cayenensis* (see Figure 2I). The highest peak of *D. bulbifera* extract was a mix of two unseparated and unidentified compounds. All-*trans*- β -carotene and lutein constituted major peaks among six other unidentified substances of *D. esculenta* (see Figure 2H) extracts. In *D. alata* (see Figure 2F), profiles showed seven major peaks including lutein, all-*trans*- β -carotene and zeaxanthin. Finally, the poorly colored *D. pentaphylla* (see Figure 2J) displayed eight major peaks including lutein, all-*trans*- β -carotene and neurosporene.

3.3 Inter- and intra-specific variation in carotenoid contents

Even though accessions belonging to a similar species had a similar blend of carotenoids, they differed greatly in the level of accumulation of these substances. When a standard was available, substance concentrations were estimated with an external standard curve. Otherwise, unidentified xanthophylls concentrations were expressed in lutein equivalents and β -carotene isomers in all-*trans*- β -carotene equivalents (see Table 4).

The richest source of all-*trans*- β -carotene was *I. batatas*, particularly the orange fleshed cultivars. *Manihot esculenta* featured considerable all-*trans*- β -carotene content too, followed by *C. esculenta*. Very low levels were found in yams (tubers of *D. alata*, *D. esculenta*, *D. cayenensis*, *D. pentaphylla* and bulbils of *D. bulbifera*), and *A. macrorrhiza*, whereas all-*trans*- β -carotene was not detected in *X. sagittifolium*.

Lutein content was found to be relatively low in *D. bulbifera* (tubers as well as in bulbils) though higher than in the other studied species for which it was barely detectable and could not be quantified. Finally, no lutein was detected in *I. batatas* and *D. pentaphylla*.

The non-colored carotenoid phytoene was present at very high concentration in one hybrid of *M. esculenta* (Hyb31) and at even lower concentrations in the other cultivars of *M. esculenta* and *D. bulbifera* tubers and bulbils. *Dioscorea pentaphylla* exhibited weak concentrations, whereas *I. batatas* and *D. alata* had phytoene contents that were below quantification limits.

Another non-colored carotenoid, neurosporene, was only featured in small amount in *D. bulbifera* tubers and as traces in *D. pentaphylla* and *D. bulbifera* bulbils.

Traces to weak concentrations of zeaxanthin were only displayed in *X. sagittifolium*, *A. macrorrhiza* and in every yam excluding *D. pentaphylla*. Only *M. esculenta* and *C. esculenta* featured 13-*cis*- β -carotene, respectively between traces to 195.6 $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$, and traces to 46.7 $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$. Regarding 9-*cis*- β -carotene, its content varied greatly in *M. esculenta* from traces to 189.1 $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$ and in taro from traces to 7.2 $\mu\text{g}/100\text{ g FW}$. Moreover, traces were found in every *D. esculenta* and *A. macrorrhiza* cultivar.

By comparison with a carrot extract carotenoid profile and with published spectra, α -carotene was estimated to have a retention time of 28.6 min. Contrary to the study of Lako et al. (2007), data presented in Table 4 show that some cultivars of each yam species contain traces of α -carotene.

Unknown xanthophylls were found in almost every cultivar of *D. alata*, in tubers and bulbils of *D. bulbifera* and in *D. cayenensis* respectively in the range of n.d.-21.0, n.d.-28.4, n.d.-61.6 and n.d.-72.8 μg lutein equivalents /100 g FW.

No detectable amount of lycopene, ε -carotene and δ -carotene was seen in any of the studied root and tuber crop species.

3.4 Potential for reaching recommended daily intake in vitamin A

Recommended daily intakes in vitamin A range from 400 to 900 $\mu\text{g}/\text{day}$, respectively for children between 0-4 years and for adults. Values of vitamin A equivalent are presented in Table 4 and give information on quantity of fresh weight required to reach recommended daily intake.

3.5 Reliability of chemotypes visual determination

In order to assess the possibility of transferring the knowledge gained on carotenoid profiling to breeders and local farmers who practice visual selection on their root crops genotypes, relationships between visually determined flesh color and content in the greater carotenoid was determined. Figure 3 reveals a good correlation between flesh color code and the logarithm of the all-*trans*- β -carotene content in *I. batatas*. The high correlation coefficient (0.97 with a significance of $P < 0.001$) indicates the reliability of chemotypes visual determination. Because anthocyanin contents can hide visual determination of carotenoids color, red to purple genotypes could not be incorporated in this assessment.

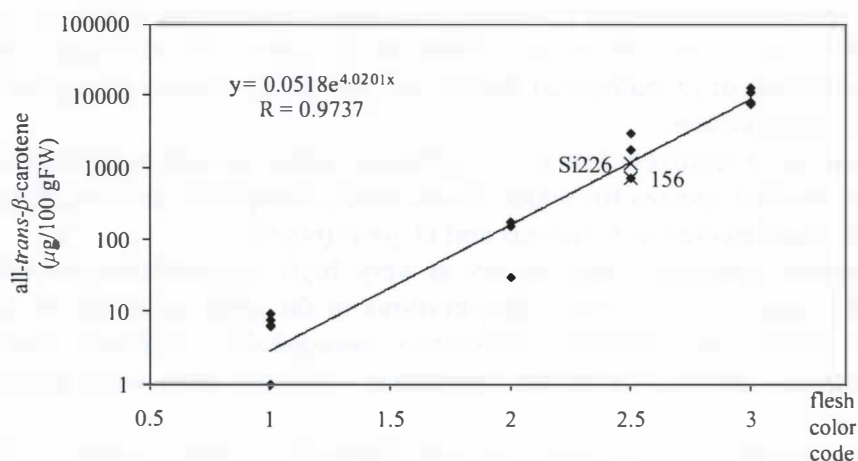


Figure 3. Relationship between visually determined color and content of the greater carotenoid (all-*trans*- β -carotene) in sweet potato cultivars. All-*trans*- β -carotene content was presented on the diagram assisted with a log transformation. Flesh color code = 1: white, 2: yellow, 2.5: yellow and orange, 3: orange. Flesh colors of Si226 and 156 are respectively yellow/orange/purple and yellow/ deep red.

Table 4. Carotenoids content in ten species from Vanuatu (min-max interval values are indicated as $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW).

Species	Nb	Xanthophylls			Cyclic carotenenes			Acyclic carotenenes		Vitamin A RAE/100 gFW
		lutein	zeaxanthin	α -carotene [#]	13- <i>cis</i> - β -carotene [#]	all- <i>trans</i> - β -carotene	9- <i>cis</i> - β -carotene [#]	phytoene	neurosporene	
<i>Ipomoea batatas</i>	30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.–14543.1	n.d.	n.d.–tr.	n.d.	n.d.–1211.9
<i>Manihot esculenta</i>	22	n.d.–4.9	n.d.	n.d.	tr.–195.6	14.1–490.0	tr.–189.1	tr.–7032.4	n.d.	1.2–57.7
<i>D. alata</i>	20	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.	tr.–16.1	n.d.	n.d.–tr.	n.d.	tr.–1.3
<i>D. bulbifera</i>	14	12.4–67.9	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.	n.d.–11.1	n.d.	n.d.–488.2	n.d.–20.9	n.d.–0.9
<i>D. bulbifera</i> (bulbils)	13	51.2–172.1	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.	n.d.–17.7	n.d.	n.d.–680.2	n.d.–tr.	n.d.–1.5
<i>D. cayenensis</i>	4	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.	tr.–10.1	n.d.	n.d.	n.d.	tr.–0.8
<i>D. esculenta</i>	10	tr.	n.d.–tr.	n.d.–tr.	n.d.	tr.–6.6	tr.	n.d.	n.d.	tr.–0.6
<i>D. pentaphylla</i>	3	n.d.	n.d.	n.d.–tr.	n.d.	n.d.–tr.	n.d.	tr.–18.6	tr.	n.d.–tr.
<i>Colocasia esculenta</i>	24	tr.–11.4	n.d.–tr.	n.d.	tr.–46.7	tr.–146.1	tr.–18.0	n.d.–tr.	n.d.	tr.–17.0
<i>Xanthosoma sagittifolium</i>	7	11.4–19.1	n.d.–tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Alocasia macrorrhiza</i>	3	tr.–15.2	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	n.d.	tr.

Nb (number of cultivars analyzed).

RAE/100 gFW (Retinol Activity Equivalent per 100 g of fresh weight)

tr. (detected but under the limit of quantification).

n.d. (not detected).

[#] estimated in all-*trans*- β -carotene equivalent.

4 Discussion

The results presented in this study are exploratory in nature. All-*trans*- β -carotene is the best known and most abundant provitamin A carotenoid and several studies have provided estimates of its content in several plant species. Reports of *I. batatas* being a good source of all-*trans*- β -carotene have lead to its commercial exploitation. Previously reported β -carotene content maxima are relatively similar to those measured in the present work (12.8 mg/100 g FW compared to 8.8 mg/100 g FW in K'osambo, 1998 and 15 mg/100 g FW in Lako *et al.*, 2007) but lower than those found by Takahata *et al.* (1993) and Teow *et al.* (2007), 22.6 mg/100 g FW or 26.5 mg/100 g FW respectively. Differences in content could be explained by the different genotypes and environment, as well as the extraction procedures.

Manihot esculenta also has interesting β -carotene content and constitutes a staple food in many developing countries due to its drought tolerance and adaptation to poor soils. Iglesias, Mayer, Chávez and Calle (1997) have screened a sub-set of the CIAT's germplasm for β -carotene content and reported similar values for yellow fleshed cultivars. Yellow fleshed cultivars of cassava studied by Lako *et al.* (2007) exhibited similar values too.

Our estimates of all-*trans*- β -carotene content in *C. esculenta* were higher than those found on three different genotypes by Huang *et al.* (2007) and two cultivars by Lako *et al.* (2007). On the other hand, our cultivars of *X. sagittifolium* displayed no detectable amount of all-*trans*- β -carotene, contrary to those analyzed by Bradbury and Holloway (1988). Some *D. bulbifera* cultivars exhibited small quantity of all-*trans*- β -carotene, whereas it was not detected by Martin *et al.* (1974). *Cyrtosperma merkusii* (Araceae) is important for health in the Pacific studied by Englberger *et al.* (2008). This species exhibits all-*trans*- β -carotene content four times higher than *C. esculenta* cultivars from our core-sample.

As far as we know, our study is the first screening of large core-sample representing such a diverse germplasm, at the species and variety levels, and it could explain differences found with other previous works. Although sweet potato and cassava presented the highest all-*trans*- β -carotene contents, aroids and yams are staples of hundreds of millions of people in developing countries, and particularly in Melanesia. Biofortification for carotenoids in those species has therefore the potential of improving the health of Melanesian populations. These species are traditionally cultivated together within the same plot in agroforestry systems. The aim of such mixed cropping is to manage regular supply of carbohydrates throughout the year and to diversify daily diets and tastes. In Vanuatu, all these species are processed into the national dish (called *laplap*) which is a sort of pudding obtained by finely grinding the freshly harvested roots and tubers.

Englberger *et al.* (2008) have already underlined serious problems of vitamin A deficiency in Pacific atoll islands where agricultural resources are limited. As reported previously by Van Jaarsveld *et al.* (2005), our study confirmed that 100 g of certain orange fleshed cultivars of *I. batatas* is sufficient for an adult to reach the recommended daily intake in vitamin A (see Table 3). Considering a mid-consumption of 500 g/day of root and tuber crops, we show that several *M. esculenta* and *C. esculenta* cultivars could contribute respectively to about 30% and 10% of the recommended daily intake in vitamin A.

Several accessions of *D. bulbifera* display a major carotenoid peak with a retention time of 26.5 min. It contains at least five substances which could not be separated with our chromatographic method, the first major one displayed a retention time of 26.44 min and four λ_{max} at 392(SH), 415(SH), 429.1 and 453.3 nm, the second major one exhibited a retention time

of 26.68 min and four λ_{\max} at 393(SH), 418(SH), 429.2 and 453.4 nm. Their identification was not possible with our set of available standards and by comparing with previously published works on carotenoids in plants. The greater peak of *D. alata* and *D. pentaphylla* was characterized by a retention time of 32.3 min and four λ_{\max} at 273, 434(SH), 452 and 479 nm. It remains unidentified and therefore, the identification of their chemical structure would be of great interest.

5 Conclusion

In this paper we have attempted to make a number of points:

- i. The sample preparation protocol described here is a reliable procedure for extracting and analyzing carotenoids from various tropical root crop species. The variation between different roots of the same plant and between different clones of the same genotype is such that our protocol allows accurate and reliable comparison of different genotypes within species. This will assist the accurate selection of parents for hybridization and screening of large sets of progenies.
- ii. As far as we know, except for *M. esculenta* and *I. batatas*, this is the first time that carotenoid HPLC-DAD profiles have been assessed on such a broad sample of ten different tropical root crop species.
- iii. Significant variation exists in carotenoid composition and content. Distinct cultivars of the same species produce significantly different chemotypes when they are planted and harvested the same day from the same plot, indicating that they are genetically controlled.
- iv. Good correlation between visually determined color and the greater carotenoid content should allow local farmers to pursue their own improvement.
- v. Carotenoids contents presented here indicate that some cultivars would deserve subsequent study to assess their potential for commercial exploitation considering their fresh yields per unit of area and time.
- vi. New, non identified, carotenoids exist in *Dioscorea* spp. Four molecules (which are major ones for *D. bulbifera* and *D. cayenensis*) were thought to be xanthophylls but could not be identified. Moreover, the greater peak of *D. cayenensis* contained two components which could not be identified. Their identification is particularly interesting considering the economic importance of *D. cayenensis*.

Tropical root crops are vegetatively propagated and often present a narrow genetic base in a particular country. Improving cultivars nutritive potential necessitates the physico-chemical characterization of their storage organs. Our work now needs to be completed by a similar study on polyphenols which also contribute to flesh color and human health. For taro (*C. esculenta*) and greater yam (*D. alata*) which are important Melanesian root crop species, a larger set of accessions characterized for their carotenoid composition would be helpful.

Acknowledgements

This work has been partly funded by the *Fonds Français pour l'Environnement Mondial* (FFEM) and is a part of the Root Crops Agrobiodiversity Project in Vanuatu. Dr C. Cabasson assistance in data analysis is acknowledged. Dr F.X. Cunningham Jr. (University of Maryland, USA), gratefully provided the *E. coli* strains accumulating various carotenoids. Discussion with Dr A. Bertrand about standard preparation is acknowledged too. Appreciation is also gratefully

extended to the staff of the Root Crops Section of VARTC at Espiritu Santo, in particular to Dr. Roger Malapa.

References

- Bradbury, J. H., & Holloway, W. D. (1988). Chemistry of tropical root crops: Significance for nutrition and agriculture in Pacific. ACIAR Monograph n°6, Canberra, Australia.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds) (2004). *Carotenoids handbook*. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
- Davies, B. H. (1976). Chapter 19: Carotenoids. In: Goodwin, T. W. (Ed.), Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Second Edition, Vol. 2 (pp. 38-163). Academic Press London New York San Francisco. Liverpool.
- Englberger, L., Schierle, J., Kraemer, K., Aalbersberg, W., Dolodolotawake, U., Humphries, J., Graham, R., Reid, A. P., Lorens, A., Albert, K., Levendusky, A., Johnson, E., Paul, & Y., Sengebau, F (2008). Carotenoid and mineral content of Micronesian giant swamp taro (*Cyrtosperma*) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 93-106.
- Fraser, P. D., Pinto, M. E. S., Holloway, D. E., & Bramley, P. M. (2000). Application of HPLC with photodiode array detection to the metabolic profiling of plant carotenoids. *The Plant Journal*, 24 (4), 551-558.
- Hagenimana, V., K'osambo, L. M., & Carey, E. E. (1999). Potential of sweetpotato in reducing vitamin A deficiency in Africa. Impact on a changing world. *International Potato Center Program Report 1997-1998*, pp.: 287-294.
- Huang, C.-C., Chen, W.-C., & Wang, C.-C.R. (2007). Comparison of Taiwan paddy- and upland-cultivated taro (*Colocasia esculenta* L.) cultivars for nutritive values. *Food Chemistry*, 102, 250-256.
- Iglesias, C., Mayer, J., Chavez, L., & Calle, F. (1997). Genetic potential and stability of carotene content in cassava roots. *Euphytica*, 94, 367-373.
- K'osambo, L. M., Carey, E. E., Misra, A. K., Wilkes, J. & Hagenimana, V. (1998). Influence of age, farming site, and boiling on pro-vitamin A content in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) storage roots. *Journal of Food Composition and Analysis*, 11, 305-321.
- Lako, J., Trenerry, C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., & Premier, R. (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101, 1727-1741.
- Mares, J. A., LaRowe, T. L., Snodderly, D. M., Moeller S. M., Grubber, M. J., Klein, M. L., Wooten, B. R., Johnson, E. J., & Chappel, R. J. (2006). Predictors of optical density of lutein and zeaxanthin in retinas of older women in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, an ancillary study of the Women's Health Initiative. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84, 1107-1122.
- Martin, F. W., Telek, L., & Ruberte, R. (1974). The yellow pigments of *Dioscorea bulbifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 335-337.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384, 240-242.
- Pérez-Gálvez, A., & Mínguez-Mosquera, I. (2001). Structure-reactivity relationship in the oxidation of carotenoid pigments of the pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4864-4869.

- Rodriguez-Amaya D. B., & Kimura M. (2000). Harvestplus handbook for carotenoid analysis. *Harvestplus technical monograph 2*, Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Centre for tropical Agriculture (CIAT).
- Sies, H., & Stahl, W. (1995). Vitamin E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1315S-1321S.
- Stahl W., & Sies H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740, 101-107.
- Stanner, S. A., Hughes, J., Kelly, C. N. M., & Buttriss, J. (2004). A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutrition*, 7(3), 407-422.
- Takahata, Y., Noda, T., & Nagata, T. (1993). HPLC determination of β -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japanese Journal of Breeding*, 43, 421-427.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., & Yencho, G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103, 829-838.
- Van Jaarsveld, P. J., Faber, M., Tanumihardjo, S. A., Nestel, P., Lombard, C. J., & Spinnler Benadé, A. J. (2005). Carotene-rich orange-fleshed sweet potato improves the vitamin A status of primary school children assessed with the modified-relative-dose-response test. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 1080-1087.
- Medline Plus Medical Encyclopedia (2008). Vitamin A. Retrieved April 18, 2008 from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002400.htm>

Résumé des résultats obtenus :

Ce travail a porté sur les compositions et teneurs en caroténoïdes de 153 accessions constituant un échantillonnage représentatif de la collection de RT du Vanouatou. Ces dix espèces (*I. batatas*, *M. esculenta*, *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. esculenta*, *D. cayenensis*, *D. pentaphylla*, *C. esculenta*, *X. sagittifolium* et *A. macrorrhiza*) représentent les principales RT consommées sur l'archipel et un échantillonnage de variétés dont la chair de l'organe de réserve est colorée.

Afin de rendre les comparaisons possibles, les accessions ont été cultivées sur la même parcelle et récoltées à maturité. Plusieurs solvants et méthodes d'extraction ont été testés et le protocole d'analyse a été optimisé (avec le suivi par CLHP-DBD) pour présenter rapidité et robustesse. Une évaluation des variations entre échantillons provenant d'une même racine et entre échantillons provenant d'un même clone montre qu'elles sont faibles et nous autorisent donc à effectuer des comparaisons inter- et intra-spécifique.

Patate douce (*I. batatas*) et manioc (*M. esculenta*) mis à part, ce travail constitue la première comparaison d'un si grand nombre d'espèces et d'accessions chez les RT. Les résultats présentés montrent qu'il existe des chimiotypes (compositions relatives) représentatifs de chaque espèce, bien qu'ils varient fortement entre variétés au sein d'une même espèce. Ceci semble indiquer une certaine régulation génétique. Dans une démarche d'amélioration des teneurs en caroténoïdes (biofortification), la variabilité intraspécifique observée permet l'identification de parents particulièrement intéressants même si certains cultivars se sont révélés très pauvres. En considérant des objectifs de commercialisation, ces caractères associés à des facteurs agronomiques performants mettent en évidence l'intérêt à leur porter à l'avenir.

Nous avons également révélé la présence de composés majeurs non-identifiés mais d'intérêt économique particulier dans des espèces d'ignames (*Dioscorea* spp.). L'identification de ces quatre xanthophylles présumés (majeurs chez *D. bulbifera* et *D. cayenensis*) pourrait se révéler très intéressante.

Les corrélations révélées entre la couleur de la chair, déterminée visuellement, et les fortes teneurs en caroténoïdes devraient permettre aux cultivateurs locaux d'effectuer la sélection par eux mêmes. Des actions participatives seraient donc possibles pour ces caractères. Ceci serait important vu les études qui montrent l'influence de l'environnement sur les teneurs (Kimura *et al.*, 2007 ; Rodriguez-Amaya *et al.*, 2008).

Discussion sur les caroténoïdes :

Les caroténoïdes acycliques sont les moins étudiés, certainement à cause de leur absence de coloration et d'activité provitamine A. Néanmoins, de très fortes teneurs en phytoène par exemple sont révélées chez certains maniocs et certains *D. bulbifera* présentant une chair colorée. Ce caroténoïde est le premier synthétisé dans la voie de biosynthèse, et constitue la seule porte d'entrée connue permettant l'accumulation de cette famille de molécules (Figure 8). De fortes teneurs indiquent donc une inactivité au moins partielle de l'enzyme responsable de la formation du ζ -carotène (la PDS, phytoène désaturase). Il est donc probable qu'une complémentation de l'activité, par exemple *via* le croisement avec un génotype possédant cette enzyme fonctionnelle, mènerait à la synthèse d'une quantité importante de caroténoïdes. En comparaison avec les 21 autres génotypes de manioc analysés, notre hybride (MeHyb31) montre des teneurs très largement au dessus des autres (d'un facteur supérieur à 85) et affiche pas moins de 0,007% du poids frais de la racine, d'ailleurs analysée plusieurs fois pour vérification. Associé à une accumulation moyenne d'*all-trans*- β -carotène et d'autres caroténoïdes, situés en aval dans

la voie de biosynthèse, ces résultats semblent confirmer l'hypothèse d'un dysfonctionnement de cette enzyme ou d'une régulation négative de son activité. Nous avons donc des raisons de penser que leurs teneurs seraient plus élevées chez cet hybride avec une voie de biosynthèse complètement fonctionnelle. Il pourrait donc être intéressant d'utiliser cet hybride particulier comme parent dans de futurs programmes.

Une comparaison intraspécifique a pu être effectuée pour les caroténoïdes les plus communs. Celle-ci a tout de même permis de révéler l'existence d'un certain nombre de cultivars relativement riches pour leur espèce, les hors-types, montrant par là même que l'échantillonnage est bien représentatif de la diversité chimiotypique. Ces génotypes sont particulièrement intéressants pour l'amélioration et l'étude d'un échantillonnage plus vaste serait désormais fort utile. Ces génotypes particuliers sont signalés dans la base de données située en annexe 2. Une forte variabilité entre les génotypes cultivés dans des conditions standardisées a été mise en évidence, indiquant de ce fait un certain contrôle génétique.

Au Vanouatou la farine de blé est le 2^{ième} produit le plus importé, derrière le riz blanc, principalement utilisée pour la fabrication de pain (FAOStat, 2009). Ces deux aliments sont dit raffinés (par opposition aux aliments complets) et donc moins riches en composés secondaires intéressants pour la santé. Une étude récemment menée au Mozambique montre que l'incorporation 38% de farine de patate douce riche en caroténoïdes dans la fabrication du pain est tout à fait possible. En plus d'atteindre l'apport journalier recommandé en provitamine A, les consommateurs préfèrent ce pain doré au pain préparé uniquement à base de farine de blé. Ceci est dû à une texture plus dense et à une apparence colorée (Low and van Jaarsveld, 2008). Il paraît donc intéressant d'étudier le comportement des consommateurs vanouatais envers ce type de produit. L'enjeu en termes de sécurité alimentaire est double. D'une part, limiter les importations de blé au profit d'une RT cultivée localement permettrait une certaine indépendance alimentaire et d'autre part, enrichir l'alimentation des populations urbaines en aliments fonctionnels (contenant de la provitamine A par exemple) permettrait de compenser une alimentation appauvrie par la consommation de produits raffinés.

Cette farine de patate douce étudiée au Mozambique est préparée de manière analogue au *nalot* vanouatais (variante du *laplap*) ou au *foutou* africain (racines bouillies et pilées), avec une étape finale de séchage en plus. Bourrieau (2000) a montré qu'il est possible de préparer un *laplap* apprécié à partir de farines de RT. Nos résultats montrent qu'il devrait être possible d'améliorer les teneurs en caroténoïdes des cultivars particulièrement appréciés, tout en étant accord avec les préférences locales (chapitre 2). On peut supposer, de part la couleur du *laplap* après cuisson (Figure 7), que la totalité des caroténoïdes n'est pas détruite. Ceci est appuyé par l'étude menée par Chandler et Schwartz (1988), qui montre que les proportions de caroténoïdes perdus durant la cuisson d'une patate douce au four n'excèdent pas 31% alors qu'elles seraient non significative quand la racine est bouillie (Failla *et al.*, 2009). Cependant, ce travail montre une isomérisation partielle du *all-trans-β*-carotène au profit de son 13-*cis*-isomère, qui présente lui la moitié de l'équivalence en vitamine A. Plus récemment, Akin-Idowu *et al.* (2009) ont montré une diminution équivalente pour des tubercules de *D. cayenensis* bouillis. Une diminution un peu plus importante (environ 40%) est également notée pour l'igname pilée, mais ne semble pas significativement différente du tubercule bouilli et demanderait une étude plus approfondie.

Tableau 3 : Synthèse bibliographique des études majeures menées sur la variabilité des teneurs en caroténoïdes principaux chez la patate douce et le manioc.

Référence	Origine	Sp.	Acc.	<i>all-trans-β-carotène*</i>	<i>13-cis-β-carotène*</i>	<i>9-cis-β-carotène*</i>	Méthode
Ezell & Wilcox, 1952	Maryland	<i>Ib</i>	4	0,14-6,29			Spectro
Takahata <i>et al.</i> , 1993	CIAT	<i>Ib</i>	22	tr.-26,5			CLHP-DBD
K'osambo <i>et al.</i> , 1998	Kenya	<i>Ib</i>	17	tr.-8,0			CLHP
Gruneberg <i>et al.</i> , 2006	CIP	<i>Ib</i>	197	8-14			CLHP-DBD
Teow <i>et al.</i> , 2007	NCSU	<i>Ib</i>	19	0,02-22,6			CLHP-DBD
Iglésias <i>et al.</i> , 1997	CIAT	<i>Me</i>	632	0,2-2,55			CLHP
Sánchez <i>et al.</i> 2006	CIAT	<i>Me</i>	101	0,02-0,77			Spectro
Ceballos, 2006a	CIAT	<i>Me</i>	2500	0,12-1,74			Spectro/CLHP
Agbage <i>et al.</i> , 2007	IITA	<i>Me</i>	24	0-0,40			Spectro
Vimala <i>et al.</i> , 2008	CTCRI	<i>Me</i>	150	0,70-1,11			Spectro
Thakkar <i>et al.</i> , 2009	IITA	<i>Me</i>	3	0,43-0,50	0,09-0,15	0,14-0,21	CLHP-DBD
Champagne <i>et al.</i> (soumis)	VARTC	<i>Ib</i>	22	0-14,5			CLHP-DBD
		<i>Me</i>	30	0,01-0,49	tr.-0,20	tr.-0,19	CLHP-DBD

(*) Intervalles min-max en mg/100gMF, (tr.) traces

En ce qui concerne le four mélanésien (Figure 7), Kumar et Aalbersberg (2006b) montrent que la cuisson à l'étouffée du plat traditionnel fidjien, le *palusami* (préparé à base de légumes) en plus de ne pas réduire les teneurs en β -carotène mesurées, les augmenterait de plus de 20%. Ceci ne prouve pas qu'une dégradation n'a pas eu lieu, mais plus simplement que les caroténoïdes seraient plus facilement extraits. Néanmoins, l'étude de ce phénomène pour une préparation à base de racines et tubercules mériterait d'être étudiée. Ces éléments sont particulièrement intéressants pour l'accroissement de la consommation de provitamine A.

Cependant, la quantité consommée est rarement équivalente avec la biodisponibilité, c'est à dire les teneurs effectivement assimilables par l'organisme humain. Bengtsson *et al.* (2009) montrent que la présence de matière grasse augmente significativement la biodisponibilité *in vitro* du caroténoïde majeur (β -carotène) de la patate douce à chair orange. Ce phénomène est également observé chez le manioc (Thakkar *et al.*, 2007). En plus de cette augmentation de la biodisponibilité, la présence d'huile diminue la *cis*-isomérisation (Failla *et al.*, 2009). Quand on regarde de plus près la manière dont ce plat est préparé (Figure 7), on remarque qu'il est souvent accompagné avant et/ou après cuisson de lait de noix de coco (Bourrieau, 2000). Cette pratique traditionnelle pourrait ainsi accroître la quantité de provitamine A réellement absorbée lors de la consommation du *laplap*. Afin de préciser encore l'image concernant la biodisponibilité de ce type de molécules, une étude a été menée *in vivo* chez le rat. Il s'avère que le β -carotène de la patate douce montrerait une plus grande biodisponibilité quand celle-ci est consommée frite que cuite au four (Tsou and Yang, com. pers. citée par Rodriguez-Amaya, 1997).

Avancées réalisées :

Ce travail est le premier criblage des collections du Vanouatou pour les teneurs et compositions en caroténoïdes. En ce qui concerne les deux espèces majeures pour les caroténoïdes (manioc et patate douce), les collections du Vanouatou sont relativement modestes en taille. Néanmoins, en comparant nos données aux études menées précédemment (Tableau 3), on observe que les teneurs rencontrées chez la patate douce au Vanouatou se situent dans la moyenne supérieure, tant au niveau maxima qu'au niveau de l'intervalle de variation. Le travail effectué par Takahata *et al.* (1993) présente pour un grand nombre d'accessions des écart-types très grands, par exemple le maximum observé correspond à $26,5 \pm 9,1$ mg/100gMF. En tenant compte des valeurs présentées par le CIP en 2007, ce maximum doit probablement être regardé comme surestimé car situé dans la partie basse de l'intervalle définie par l'écart-type). Les travaux réalisés par K'osambo *et al.* (1998) utilisent une méthode d'extraction très longue, augmentant du fait la dégradation des caroténoïdes. Il est d'ailleurs aujourd'hui généralement recommandé de minimiser autant que possible cette étape tant elle est source d'erreur potentielle (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2000). Les teneurs présentées par Teow *et al.* (2007) sont très élevées et ceci est certainement à rapprocher de la longue histoire de l'amélioration de la patate douce aux Etats-Unis. La concentration de 22,6 mg/100gMF est d'ailleurs relevée dans un clone issu d'une population d'amélioration, alors que la seconde valeur la plus élevée est de 16,7 chez une variété commerciale, Hernandez.

En ce qui concerne le manioc, nos teneurs semblent plutôt faibles en comparaison avec les autres études. Cependant, la majorité des études a été menée à l'aide d'une méthode utilisant la spectrophotométrie. Cette méthode permet l'estimation des teneurs mais pas la quantification précise. Par spectrophotométrie, on estime en réalité l'absorbance d'un mélange comprenant des isomères de β -carotène ainsi que d'autres caroténoïdes mineurs. Or, les proportions des *cis*-

isomères varient beaucoup par rapport aux caroténoïdes totaux. Par exemple, dans notre travail entre 42 et 73%. Il est donc difficile d'estimer précisément les teneurs en *all-trans-β*-carotène. De plus, en utilisant une colonne C18, il est difficile de réaliser une bonne séparation des isomères du *β*-carotène (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2000) et sans détecteur à barrettes de diode on quantifie encore une fois un mélange d'isomères et c'est par exemple la méthode qu'utilisent Iglesias *et al.* (1996). Si l'on additionne donc les trois isomères majeurs du *β*-carotène, on observe que nos valeurs sont en fait comparables à celles présentées dans les autres études. D'ailleurs, nos valeurs sont similaires à celle présentées par Thakkar *et al.* (2009), qui utilisent une méthode analogue à la notre.

D'un point de vue nutritionnel, en tenant compte que les *cis*-isomères permettent la production de deux fois moins de vitamine A, une information supplémentaire est disponible, et donc la détermination des équivalents en provitamine A devient plus précise. Il convient cependant d'observer que les valeurs présentées par Ceballos *et al.* (2006) constituent une synthèse de résultats sur six ans avec donc des conditions environnementales variées. Les valeurs relativement basses rapportées par Agbage *et al.* (2007) proviennent du fait qu'elles correspondent à des mesures de farines séchées en étuve à 50°C.

Cette étude constitue donc un criblage important des collections de patate douce et manioc du Vanouatou mais aussi le premier criblage fiable, à notre connaissance, d'un nombre important de cultivars d'aracées (*C. esculenta* et *X. sagittifolium*) et d'ignames (*D. alata*, *D. esculenta* et des tubercules et bulbilles de *D. bulbifera*). Nous avons également étudié pour la première fois, les teneurs et compositions de quelques cultivars d'igname (*D. cayenensis-rotundata*, *D. pentaphylla*) et d'aloce (*A. macrorrhiza*). Notre travail confirme ainsi que la patate douce affiche au niveau interspécifique, comme attendu, les teneurs en *all-trans-β*-carotène les plus élevées, mais ce sont des espèces comme *D. bulbifera* ou les aracées qui contiennent les plus fortes teneurs en lutéine par exemple.

Les compositions présentées dans le tableau 4 confirment la présence de *β*-carotène dans presque tous les organes de réserve colorés et révèlent son absence chez *D. bulbifera*. Ceci s'explique vraisemblablement par le fait que l'étude de Martin *et al.* (1974), qui révélait la présence de cet caroténoïde, date de plus de 30 ans. A l'époque, l'identification s'effectuait par chromatographie sur couche mince et les standards purs étaient plus difficiles à produire qu'aujourd'hui. Notons d'ailleurs que le pic majeur chez cet espèce demeure non identifié et que son temps de rétention est proche de celui du *all-trans-β*-carotène.

Les études menées sur la diversité génétique des RT au Vanouatou à l'aide de marqueurs moléculaires, montrent des bases génétiques étroites. La diversité phénotypique est encore difficile à révéler par des corrélations avec les études génotypiques, soit parce qu'on ne dispose pas d'un nombre suffisant de marqueurs, soit parce que la diversité est créée par les processus d'épissage ou de régulation, ou encore parce que les différences sont épi-génétiques (liées à l'expression du génotype). L'étude des chimiotypes, en plus de permettre une analyse précise des caractères utiles de ces plantes destinées à l'alimentation, est aujourd'hui le moyen le plus pertinent de mettre en évidence cette diversité phénotypique. Ces plantes sont en effet cultivées pour leurs chimiotypes et non pas pour les caractéristiques morphologiques de leur appareil aérien. Si les morphotypes sont eux aussi variables, leur utilité pour les producteurs est

Tableau 4 : Récapitulatif des compositions en caroténoïdes pour les cultivars étudiés dans la littérature et dans notre travail (sauf le manioc et la patate douce).

Caroténoïde	<i>C. e.</i>		<i>X. s.</i>		<i>A. m.</i>		<i>D. a.</i>		<i>D. c.</i>		<i>D. b.</i>		<i>D. e.</i>		<i>D. p.</i>	
	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU	Lit.	VU
<i>all-trans-β-carotène</i>	X	X	X	O	O	X	X	X	X	X	O	X	X	X	X	X
<i>13-cis-β-carotène</i>		X		O		O		O		O		O		O		O
<i>9-cis-β-carotène</i>		X		O		X		O		O		O		X		O
<i>α-carotène</i>	X	O		O		O	O	X		X		X	O	X		X
<i>δ-carotène</i>		O		O		O		O		O		O		O		O
<i>ε-carotène</i>		O		O		O		O		O		O		O		O
lutéine		X		X		X		X		X	X	X		X		O
zéaxanthine		X		X		O		X		X		X		X		O
phytoène		X		O		O		X		O		X		O		X
neurosporène		O		O		O		O		O		X		O		X
lycopène	O	O		O		O	O	O		O		O	O	O		O

Détecté (X), non détecté (O), dans la littérature (Lit.) ou notre travail (VU). *Colocasia esculenta* (*C. e.*), *Xanthosoma sagittifolium* (*X. s.*), *Alocasia macrorrhiza* (*A. m.*), *Dioscorea alata* (*D. a.*), *D. cayenensis-rotundata* (*D. c.*), *D. bulbifera* (*D. b.*), *D. esculenta* (*D. e.*), *D. pentaphylla* (*D. p.*).

surtout de pouvoir retrouver des chimiotypes, c'est-à-dire des cultivars avec des propriétés physico-chimiques bien particulières. En l'absence de maladie grave, la sélection traditionnelle porte essentiellement sur les chimiotypes.

De nombreuses données produites au cours de ce travail ont permis de montrer des opportunités d'amélioration. Par exemple, des génotypes présentant des valeurs peu communes, ceux que l'on appelle les hors-types, et qui sont potentiellement très intéressants quand on désire créer de la variabilité. Ils devraient être utilisés préférentiellement comme parents lors de la poursuite des programmes, en espérant bien sûr que des caractères délétères ne soient pas associés à leurs caractéristiques chimiques intéressantes. Des bases pour la biofortification en caroténoïdes des RT au Vanouatou ont donc pu être établies.

Les deux espèces les plus importantes en termes de caroténoïdes (patate douce et manioc) ont été très largement étudiées ailleurs qu'au Vanouatou et d'importants programmes d'amélioration génétique existent, mais leurs ressources génétiques sont encore en exploration. Ceci est illustré par des programmes de recherche conduits sur les ressources génétiques locales de la patate douce en Mélanésie (*Screening and field trials of high-carotenoid sweet potatoes in Solomon Islands and Papua New Guinea to improve human vitamin A status*) mené par l'ACIAR au sein de l'un des deux centre de diversité génétique de l'espèce. Il en est de même pour le manioc et les ressources des espèces sauvages voisines sont encore considérées comme des ressources à explorer (Nassar, 2007a).

Une technologie, initialement développée pour les céréales, la SPIR, se révèle de plus en plus intéressante quant aux applications pour les RT. Cette technique de prédiction non destructive permet de cribler de très grands nombres d'échantillons en très peu de temps. Chez la pomme de terre, la méthode semble au point et a permis l'identification d'accessions de *Solanum phureja* à forte teneurs en caroténoïdes totaux et en zéaxanthine, ainsi qu'en teneurs relativement élevées en β -carotène (Bonierbale *et al.*, 2009). Cette équipe du CIP semble également tenter

d'établir les calibrations et tester l'application à la patate douce, tout comme le CIAT sur le manioc (Ceballos, 2006 ; Grüneberg, 2006). Cependant la calibration du spectromètre ainsi que l'entretien demeurent encore assez coûteux.

Notre travail a mis en évidence des espèces intéressantes pour la biofortification en caroténoïdes. Une seconde classe de métabolites secondaires est intéressante pour la santé, les composés phénoliques. Ainsi, et toujours dans la même optique, l'exploration des collections du Vanouatou et l'étude des possibilités d'amélioration génétique des teneurs en anthocyanes et autres flavonoïdes représente l'objet du chapitre suivant.

QUATRIEME CHAPITRE : LES COMPOSES PHENOLIQUES



Laplap igname (*D. alata*), cuit à l'intérieur d'une tige de bambou (*Phyllostachys* sp.)



QUATRIEME CHAPITRE : LES COMPOSES PHENOLIQUES

1. Un intérêt toujours croissant

1.1 Présentation des composés phénoliques

Toujours dans une optique d'améliorer les propriétés nutritionnelles des plantes, l'étude d'une grande famille de métabolites secondaires, les composés phénoliques, est de nos jours devenue incontournable. Les composés phénoliques incluent les polyphénols et les monophénols, caractérisés par la présence d'un à plus de six cycles aromatiques acylés par deux (ou plus) groupements hydroxy-phénols. Bien que très différentes, ces deux classes de molécules partagent de nombreuses propriétés et caractéristiques.

Les monophénols sont bien souvent des acides synthétisés à partir de la phénylalanine, comme l'acide caféique ou l'acide *p*-coumarique, en amont de la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Les précurseurs de cette voie sont le malonyl-CoA et le *p*-coumaroyl-CoA provenant respectivement du métabolisme des sucres et de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes (Forkmann and Heller, 1999). Il existe de nombreuses sous-classes et ramifications au sein de la voie de biosynthèse (Figure 10), allant par exemple des chalcones aux anthocyanes en passant par les flavonoïdes à proprement parler.

Les flavonoïdes ont été détectés chez de très nombreuses plantes supérieures et plus de 8150 molécules ont actuellement été identifiées (Andersen and Markham, 2006). Ils incluent les flavonols (flavon-3-ol) comme la quercétine, l'hypéroside ou le kaempférol et les flavanols (flavan-3-ol) comme la catéchine ou l'épicatéchine, mais aussi les anthocyanes.

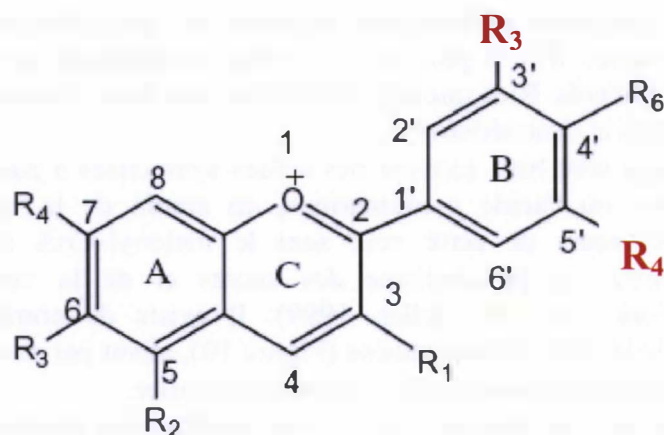
Les flavonols sont généralement des pigments jaune clair, les flavanols paraissent incolores, alors que les anthocyanes arborent des couleurs allant du rose clair au bleu foncé en passant par le rouge. Ces molécules constituent la plus grande famille de pigments hydrosolubles et un intérêt toujours croissant est reflété par l'augmentation permanente des études les concernant (Andersen and Markham, 2006). Une des explications vient de la mise en évidence de nombreuses propriétés liées à des bienfaits pour la santé humaine.

On observe par ailleurs un intérêt international grandissant pour les colorants alimentaires d'origine naturelle en accord avec une demande croissante des consommateurs et une législation de plus en plus contraignante en ce qui concerne les colorants synthétiques. Les principales anthocyanes disponibles dans le commerce sont extraites du raisin (*Vitis* spp.), sureau noir (*Sambucus nigra*), chou rouge (*Brassica oleracea*) et la roselle (*Hibiscus sabdariffa*). D'autres extraits sont également disponibles à partir d'orange sanguine (*Citrus sinensis*), d'aronie noire (*Aronia melanocarpa*) et aussi de patate douce (*Ipomoea batatas*) (Bridle and Timberlake, 1997).

Les anthocyanes sont des anthocyanidines (l'aglycone) glycosylées. Il existe plus de 30 anthocyanidines, mais 90% des anthocyanes seraient formées avec les six aglycones majeurs (cyanidine, pélagonidine, péonidine, pétunidine, malvidine, délphinidine) qui diffèrent seulement par les hydroxylations et méthoxylations de leurs cycles aromatiques (Figure 11). Chez les fleurs, les couleurs sont bien connues pour être influencées, entre autres, par le type d'anthocyanidine, le type de glycosylation de l'anthocyanidine (3-glucose, 3-galactose, 3-rutinoïse, 3,5-diglucose...), une acylation de l'anthocyane (acides hydroxycinnamiques : *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique ; acides hydroxybenzoïques : *p*-hydroxybenzoïque,

gallique ; acides aliphatiques : malonique, acétique, malique, succinique, tartarique, oxalique...) et le pH vacuolaire (Andersen and Markham, 2006 ; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Les différentes anthocyanes possèdent des propriétés intrinsèques variables (pouvoir anti-oxydant, effet antimicrobien, stabilité pendant les procédés...). En solution acide, ces molécules sont chargées positivement et se trouvent sous leur forme la plus stable, la forme flavylum (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).



Anthocyanidine	R_3	R_4	Abréviation
cyanidine	OH	H	<i>Cy</i>
pélgargonidine	H	H	<i>Pg</i>
péonidine	O-CH ₃	H	<i>Pn</i>
pétunidine	O-CH ₃	OH	<i>Pt</i>
malvidine	O-CH ₃	O-CH ₃	<i>Mv</i>
délphinidine	OH	OH	<i>Dp</i>

Figure 11 : Structure moléculaire des anthocyanidines majeures chez les plantes d'après Castañeda-Ovando *et al.* (2009)

Malgré le nombre important d'études portant sur les anthocyanidines, les 3-désoxyanthocyanidines trouvées chez le sorgho (*Sorghum spagnorubins*), ainsi que la rosacyanine B, sont les seuls aglycones naturellement présents chez les plantes. Cependant, une étude relève la présence de cyanidine, péonidine et pélgargonidine chez le pois noir sec (*Phaseolus vulgaris* L.) (Macz-Pop *et al.*, 2006).

En étudiant les voies de biosynthèse connues des flavonoïdes (Figure 10), on suppose actuellement que différents groupes sont apparus au cours de l'évolution. Ainsi, les groupes à structure plus simple retrouvés en amont des voies de biosynthèse, comme les flavanones, seraient apparus chez les premières plantes photosynthétiques, alors que les anthocyanes structurellement beaucoup plus complexes auraient été formés au cours d'évolutions plus récentes. Cependant, comme on a également retrouvé des anthocyanes chez les ptéridophytes et

que les fonctions *in planta* ont au cours de l'évolution été très diversifiées, cette hypothèse a été remise en question (Stafford, 1991).

Chez la plupart des plantes supérieures les anthocyanes seraient présentes dans les cellules épidermiques et seraient dissoutes uniformément au sein de la matrice vacuolaire. Il existerait cependant chez certaines plantes, des inclusions anthocyaniques vacuolaires formées par des complexes protéiques piégeant ces pigments hydrosolubles dans une partie de la vacuole. Plus précisément, les anthocyanes seraient accumulées dans le cytoplasme, dans ces corps vésiculaires constituant des compartiments prévacuolaires. Il y aurait donc un transport dans le cytoplasme, du lieu de synthèse vers la vacuole centrale, *via* ces compartiments prévacuolaires (Zhang *et al.*, 2006).

1.2 Intérêts pour les plantes et l'Homme

Les anthocyanes ont montré diverses fonctions comme l'attraction de pollinisateurs et de disperseurs de graines dans les fleurs et fruits d'Angiospermes. Elles présentent ainsi un caractère important qui illustre la coévolution des interactions plante-animal. En ce qui concerne leur présence dans les jeunes feuilles, semences, tiges et racines, elle apparaît beaucoup moins évidente. Ces molécules joueraient aussi de nombreux autres rôles physiologiques comme celui de défense quand elles sont situées au niveau de la surface des feuilles ou dans les cellules épidermiques. De même, dans les jeunes feuilles, au niveau de l'expansion foliaire ou dans le feuillage des espèces caducifoliées en automne, elles seraient produites en réponse à l'agression des rayons UV, à des carences en nutriments, à des changements de température ou de durée d'éclairement, ou encore associées à des blessures ou comme défense contre les herbivores et infections par des pathogènes microbiens.

En effet, une des fonctions plus généralement rencontrée parmi les composés phénoliques, et une des plus intéressantes pour les plantes, est la protection contre l'invasion microbienne. En étant produits en réponse à ce genre d'agression, ces composés sont accumulés et jouent un rôle de phytoalexine en inhibant par exemple la germination des spores mais aussi dans la lutte contre les pathogènes fongiques, bactériens et même viraux. Leurs fonctions *in planta* ont donc généralement été attribuées à des rôles de soluté permettant d'ajuster la pression osmotique en réponse aux stress hydriques et liés au froid, de protection des rayonnements UV et visibles mais aussi comme anti-oxydants et même comme chélateurs de métaux lourds (Harborne and Williams, 2000).

Lors de l'attaque des pathogènes ou de nuisibles, les plantes utilisent des enzymes appelées polyphénols oxydases, dont le rôle est de catalyser en présence d'oxygène la polymérisation de tous les polyphénols disponibles. Les stratégies mises en place sont donc celle du pansement, en colmatant les dommages infligés au niveau du tissu touché, celle du répulsif, en diminuant l'appétence du tissu, et celle de la lutte, en agissant directement sur les organismes invasifs (Adams and Brown, 2007). Pour ce qui est de la répulsion, la naringénine retrouvée chez les *Citrus* induit un goût très amer par exemple et les pro-anthocyanidines (polymères de flavonoïdes également connus sous le terme tanins condensés) sont connues chez les mammifères pour perturber le système digestif en précipitant des protéines principalement contenues dans la salive (Andersen and Markham, 2006).

En ce qui concerne les RT, ces stratégies sont relativement bien documentées, particulièrement chez les ignames dont la chair de certaines variétés est bien connue pour brunir

au contact de l'air du fait de l'action de ces enzymes (Akissoe *et al.*, 2005 ; Martin and Ruberte, 1976 ; Mayer and Harel, 1979).

De même, la détérioration post-récolte bien étudiée chez le manioc implique de nombreuses polyphénols oxydases. Ceci constitue d'ailleurs une contrainte importante pour un grand nombre de variétés en tant que facteur limitant l'exploitation dans l'industrie agro-alimentaire. Ces études montrent que les teneurs élevées en polyphénols totaux sont toujours positivement corrélées à ces facteurs limitants (Richard, 1985 ; Tanaka *et al.*, 1983 ; Uritani, 1999).

Ces molécules ont montré divers intérêts relatifs à leur consommation par l'homme et sont désormais considérées comme d'importants nutraceutiques liés à la prévention de certaines pathologies. L'un des rôles profitables aux plantes le serait également à l'homme, il s'agit de l'activité anti-oxydante. Par exemple, une inversion des effets liés au vieillissement cellulaire a été montrée par diverses études et ainsi la consommation de composés phénoliques serait liée au ralentissement du déclin des fonctions cognitives et du dysfonctionnement de plusieurs paramètres neurologique et comportementaux. Ceci a été montré au travers de plusieurs études épidémiologiques, par exemple chez les personnes consommant une grande quantité de fruits et légumes (Lau *et al.*, 2006).

Une autre étude, menée *via* des tests cognitifs réalisés sur une période de dix ans, montre une corrélation positive entre la consommation de composés phénoliques et de meilleurs scores aux tests, ainsi qu'une diminution des performances moins rapides sur la durée de l'étude (Letenneur *et al.*, 2007). La consommation de chocolat noir, riche en flavonols, engendre, par exemple, la réduction de la pression sanguine et augmente la sensibilité à l'insuline chez des patients sains (Francis *et al.*, 2006). De même, au niveau du cerveau, cette consommation accroîtrait l'afflux de sang vers la matière grise, induisant un potentiel effet sur la diminution des risques d'accidents vasculaires cérébraux et donc participerait à l'entretien du système nerveux central (Grassi *et al.*, 2005). Les études sont très nombreuses mais nous nous limiterons à ces quelques exemples.

D'autres intérêts ont été récemment rapportés, il s'agit des potentiels thérapeutiques liés à la prévention des maladies les plus répandues dans les pays développés, les maladies cardio-vasculaires et certains types de cancers. L'inhibition de certains virus comme le VIH-1 (Virus d'Immunodéficience Humaine de type 1) et l'amélioration de l'acuité visuelle ont également été évoquées (Andersen *et al.*, 1997 ; Beattie *et al.*, 2005 ; Cooke *et al.*, 2005 ; Kamei *et al.*, 1995 ; Manach *et al.*, 2005 ; Moyer *et al.*, 2002 ; Neuhausser, 2004 ; Rechner and Kroner, 2005 ; Stintzing *et al.*, 2002).

De fortes corrélations ont été établies entre la consommation de composés phénoliques et la réduction des risques de maladies cardio-vasculaire (Manach *et al.*, 2005). Par exemple, une étude panaméenne, réalisée sur une île où la consommation de flavanols venant du cacao est forte, montre un plus faible taux d'apparition de maladies cardio-vasculaires et de cancers d'un facteur dix, et de diabètes d'un facteur quatre comparé au reste de la population (Bayard *et al.*, 2007). Notons cependant que tous les autres facteurs correspondant au mode de vie ne peuvent être exclus.

Les anthocyanes de patate douce ont également montré des propriétés d'inhibition du développement de lésion artériosclérotique chez la souris. *In vitro*, ces anthocyanes protégeraient même mieux les lipoprotéines de faible densité de l'oxydation en comparaison avec d'autres anthocyanes ou l'acide L-ascorbique (Miyazaki *et al.*, 2008). Une étude similaire montre que le

vin rouge serait capable de réduire la rigidité artérielle chez les femmes ménopausées en situation d'hypercholestérolémie (Naissides *et al.*, 2006). Enfin, on ne peut manquer de citer le célèbre "paradoxe français" qui met en évidence, dans certaines régions françaises, des faibles taux d'apparition des maladies cardio-vasculaires et de l'artériosclérose malgré des teneurs élevées en graisses (Renaud and de Logeril, 1992). Ceci serait dû à une consommation régulière des composés phénoliques présents dans le vin rouge.

Les composés phénoliques sont donc considérés comme étant bien plus que des anti-oxydants et ils ne joueraient d'ailleurs, en réalité, qu'un rôle mineur dans l'activité anti-oxydante classique. Ils sont même parfois reconnus pour jouer un rôle diamétralement opposé, celui de pro-oxydant. En effet, leur ingestion induirait la stimulation des mécanismes classiques de détoxification cellulaire *via* les systèmes enzymatiques endogènes impliqués dans la protection contre les stress oxydatifs. Il a été montré une capacité à réguler la transcription de gènes codant des enzymes impliqués dans ces mécanismes physiologiques, mais aussi à réguler de nombreux processus impliquant des cascades enzymatiques de signalisation, régulant par exemple la croissance cellulaire ou l'inflammation (Mariappan *et al.*, 2006). Là encore, de nombreuses études récentes, que nous ne détaillerons pas, apportent des preuves quant aux interactions directes des composés phénoliques avec l'ADN ainsi que la transcription de certains gènes.

On peut considérer les composés phénoliques comme molécules de défense chez les plantes et comme molécules d'intérêt chez l'homme. Ceci s'expliquerait par le fait que ce dernier et ses ancêtres mammifères ont été exposés durant des millions d'années à ces "toxines" produites par les plantes en vue de décourager leur consommation. Il serait donc surprenant que des phénomènes de co-évolution n'aient pas été mis en place, d'autant plus que de nombreux sites de fixation possédant une forte affinité pour ces composés ont été mis en évidence dans la régulation de gènes et de voies de signalisations impliqués dans la protection contre ces "toxines". Ainsi, il est fort probable que les composés phénoliques soient impliqués dans le maintien et la promotion de l'activité anti-oxydante et d'autres mécanismes endogènes, induisant une réponse plus rapide aux stress oxydatifs ou autres (Harborne and Williams, 2000). De ce fait, l'action *in vivo* des anti-oxydants apparaît désormais bien plus subtile qu'elle n'a pu être pensée précédemment et les réels potentiels des antioxydants en termes de santé restent encore à éclaircir.

1.3 Valorisation de l'agrobiodiversité et applications commerciales

Comme présenté précédemment pour les caroténoïdes (Chapitre 3, section 1.3), le maintien, la valorisation et l'enrichissement de l'agrobiodiversité est très importante pour différents secteurs et en particulier par l'exploitation industrielle des composés phénoliques.

Au Japon, les anthocyanes de patate douce sont surtout utilisées comme colorants naturels dans la préparation de nouilles, de pain, de confitures, de chips, de jus, de potages, de boissons alcoolisées sous la forme d'extraits (Suda *et al.*, 2003). Cependant, un des problèmes majeurs rencontrés avec l'utilisation de ce type de pigments est leur stabilité insuffisante en solution aqueuse de pH supérieur à 3. Ainsi leur utilisation comme colorant alimentaire est bien souvent limitée aux boissons et confiseries.

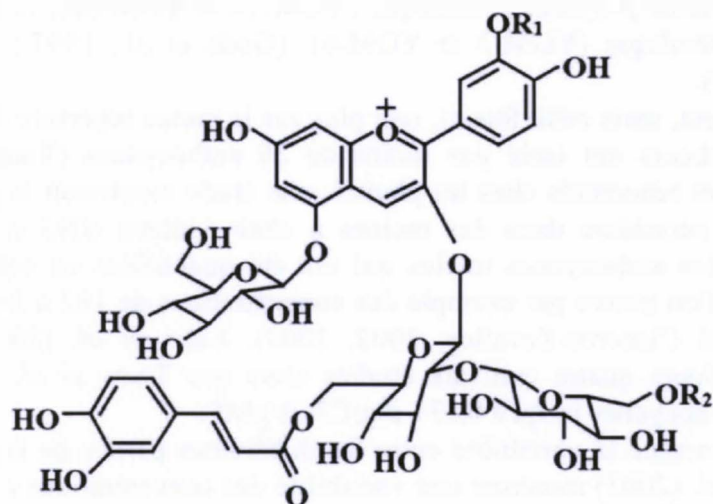
Les propriétés des anthocyanes de patate douce ont de nombreuses implications physiologiques chez l'homme. Des tests d'activité biologique *in vitro* ont montré d'importantes capacités anti-hypertensives (*via* l'inhibition de la conversion de l'angiotensine de type 1 inactive, en type 2 active), des capacités anti-mutagènes et aussi un pouvoir anti-oxydant élevé (Suda *et*

al., 2003). Chez la souris, des tests *in vivo* montrent également des capacités de protection du foie en diminuant la réponse inflammatoire de peroxydation des lipides induite par le D-galactose (Zhang *et al.*, 2008). De plus, il a été démontré chez le rat que l'absorption de ces molécules dans le sang se faisait de manière directe et qu'elles se retrouvaient donc dans le plasma sous forme intacte, pouvant ainsi présenter les mêmes activités biologiques que celles révélées *in vitro*. Ces propriétés placent donc les cultivars violets de patate douce en bonne position dans la liste des aliments associés à des bénéfices pour la santé (Suda *et al.*, 2003).

Chez un cultivar à peau et chair jaune, les teneurs totales en composés phénoliques correspondraient principalement aux acides phénoliques, tout comme l'activité anti-oxydante, et ces caractéristiques augmenteraient quand la racine est cuite (bouillie à 95°C). Ces observations ont été également rapprochées à des propriétés préventives de certains cancers (Rabah *et al.*, 2004). Notons tout de même que les réactions de Maillard qui se déroulent lors de la cuisson des aliments produisent une grande quantité de molécules présentant une certaine activité anti-oxydante (Wijewickreme and Kitts, 1998).

Finalement, la preuve des bienfaits liés à une certaine activité anti-oxydante, et divers potentiels en termes de santé, des composés phénoliques montrés *in vitro* serait bien sûr dépendante *in vivo* du déroulement de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion de ces composés par le corps après ingestion. De plus, la biodisponibilité des composés phénoliques, particulièrement leur forme monomérique, pose question sur la fiabilité des résultats obtenus *in vitro* pour une quantité non négligeable de travaux. En effet, une grande majorité d'études sur l'activité de tels composés a porté sur l'étude des aglycones, et ce alors que l'ensemble de ces molécules est généralement présente sous forme conjuguée et qu'évidemment leur potentiel ou activité n'est pas nécessairement similaire à ceux des aglycones (Walle, 2004 ; Williamson and Manach, 2005). Notons également que des effets de synergie entre composés phénoliques ont été montrés au sein d'extraits complexes issus de plantes (Gordon and An, 1995).

Quelques programmes d'amélioration ont récemment démarré. Par exemple en Indonésie, par l'*Indonesian LEgumes and Tuber crops Research Institute* (ILETRI) pour la patate douce. Il vise des caractères classiques d'amélioration (rendement, propriétés de conservation, pourcentage de matière sèche...) mais aussi les teneurs en anthocyanes. Dans une même optique de biofortification, le KONARC mène au Japon des programmes d'amélioration des teneurs en anthocyanes de la patate douce. C'est en 1995 qu'un premier cultivar très riche en anthocyanes a été obtenu et celui-ci est actuellement largement utilisé pour la production de colorants naturels (anthocyanes) dans l'industrie agro-alimentaire japonaise. En 2001, un deuxième cultivar avec de meilleures qualités de conservation et une meilleure résistance aux nématodes, a été obtenu. Plus récemment, en 2006, un nouveau cultivar a été créé et présente vraisemblablement une augmentation de la teneur en anthocyanes ainsi que des teneurs relatives en anthocyanes légèrement différentes (Yoshinaga *et al.*, 2006).



R ₁ = H	R ₁ = CH ₃	R ₂
YGM-1b	YGM-4b	acide caféique
YGM-1a	YGM-5a	acide p-hydroxybenzoïque
YGM-2	YGM-5b	H
YGM-3	YGM-6	acide férulique

Figure 12 : Structure moléculaire des anthocyanes majeures de patate douce d'après Suda *et al.* (2008)

1.4 Les composantes de la variabilité

Au sein des composés phénoliques, les anthocyanes n'ont été étudiées en détail que chez relativement peu d'espèces, tant en termes de proportions qu'en termes de teneurs exactes. Ces dernières sont relativement difficiles d'accès compte tenu du grand nombre de molécules à caractériser et du fait de la rareté des témoins standards purs dans le commerce.

Pour beaucoup d'espèces de RT, seules les teneurs en phénols totaux sont disponibles. La longueur des sections présentées ci-après est volontairement proportionnelle aux travaux réalisés sur l'espèce concernée.

Patate douce

Compositions et teneurs en anthocyanes :

En ce qui concerne les anthocyanes majeures, bien qu'apparemment variables selon les cultivars, elles seraient au maximum au nombre de huit et elles ont été isolées majoritairement d'un cultivar dont la chair de la racine est violette, nommé *Ayamurasaki*, très utilisé au Japon dans l'industrie alimentaire. Ses anthocyanes majeures peuvent être divisées en deux groupes : les dérivés de cyanidine (YGM-1a, -1b, -2, -3) et les dérivés de péonidine (YGM-4, -5a, -5b -6). La péonidine est une cyanidine méthylée en 3'. Ces molécules présentées en figure 12,

correspondent respectivement aux cyanidines et péonidines : mono-acylées par l'acide caféique (YGM-2 et YGM-5b), bi-acylées par des acides caféiques (YGM-1b et YGM-4b), bi-acylées par l'acide caféique et l'acide *p*-hydroxybenzoïque (YGM-1a et YGM-5a), et bi-acylées par l'acide caféique et l'acide férulique (YGM-3 et YGM-6). (Goda *et al.*, 1997 ; Otake *et al.*, 1992 ; Terahara *et al.*, 1999).

Plus récemment, mais cette fois-ci, non plus sur la racine tubérisée mais dans une culture cellulaire, des chercheurs ont isolé pas moins de 26 anthocyanes (Tian *et al.*, 2005). Bien qu'exceptionnellement rencontrés chez les plantes, une étude montrerait la présence d'aglycones de cyanidine et de péonidine dans des racines à chair violette (Oki *et al.*, 2002). Ce sont néanmoins souvent les anthocyanes totales qui ont été quantifiées en équivalent cyanidine-3-glucoside (C3G), et l'on trouve par exemple des concentrations de 182 à 243 mg(C3G)/100gMF (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2002, 2003). Lako *et al.* (2007) ne détectent pas d'anthocyanes dans leurs quatre cultivars étudiés alors que Teow *et al.* (2007) montrent des teneurs totales en anthocyanes jusqu'à 0,531 mg(C3G)/gMF.

En ce qui concerne la variabilité entre les différentes parties de la patate douce à chair violette, Philpott *et al.* (2003) montrent une variabilité des concentrations en anthocyanes totales entre la peau et la chair d'une même racine. Les concentrations trouvées dans la peau sont quasiment toujours supérieures à celle trouvées dans la chair, sauf pour un cultivar pour lequel elles sont identiques. Chez la patate douce rouge, la peau contiendrait également plus d'anthocyanes que la chair. Cependant la peau ne représente que 4,8% du poids et donc la chair apporterait bien plus d'anthocyanes par racine. La distribution est donc la suivante : 90,9% des anthocyanes totales sont situées dans la chair, contre 9,1% dans la peau. Il en est quasiment de même pour les phénols totaux avec 89,2% dans la chair et 10,8% dans la peau (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2002, 2003).

Caractéristiques des anthocyanes :

De part leur fort taux d'acylation, les huit molécules généralement rencontrées correspondraient donc à des anthocyanes parmi les plus stables qui existent. En effet, une étude conduite sur 19 sortes de fruits et légumes montre que les anthocyanes de patate douce, soumise à un chauffage à 80°C, présentent une couleur bien plus résistante à la dégradation que celles de l'aubergine (*Solanum melongena* L.) ou de la framboise (*Rubus idaeus* L.), et légèrement plus que celles du chou rouge (*Brassica oleracea* L.), de l'oignon violet (*Allium cepa* L.) ou encore du radis rouge (*Raphanus sativus* L.). Par contre, elles semblent légèrement moins stables que celles de la grande igname violette (*Dioscorea alata* L.). Les espèces résistant le plus à la dégradation par la chaleur semblent correspondre à celles dont les profils présentent le plus grand nombre d'anthocyanes (Hayashi *et al.*, 1996). Cette même étude montre également que la patate douce contiendrait les anthocyanes les plus stables aux rayons UV, légèrement devant le radis rouge, la grande igname violette et le chou rouge, et très loin devant l'aubergine et la framboise. Pour la résistance de la couleur aux rayons UV, il semble donc que seul le fort taux d'acylation soit favorable.

Les extraits aqueux de patate douce rouge seraient une très bonne source de colorants et, qui plus est, très stables au pH de 0,9 à 4, à la température (à 20°C pendant 4 mois ou chauffées à 98°C) et enfin, à la dégradation par la lumière (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2004). Ces résultats sont comparables voire supérieurs à ceux de la carotte violette (*Daucus carotta* L.)

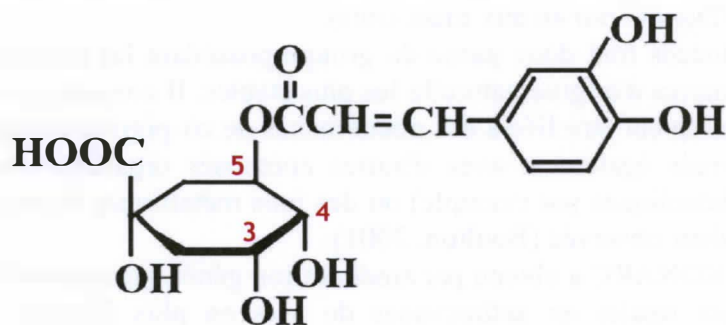
et bien supérieurs à ceux du maïs violet (*Zea mays* L.) et du colorant synthétique rouge allura (E129 en France et *FDandC red 40* aux Etats Unis).

Les patates douces font donc partie du groupe possédant les anthocyanes correspondant aux colorants alimentaires d'origine naturelle les plus stables. Il convient de noter que la stabilité des couleurs peut également être liée à des phénomènes de co-pigmentation, soit par association entre anthocyanes, mais également avec d'autres composés organiques non colorés (comme d'autres composés phénoliques par exemple) ou des ions métalliques induisant des changements en intensité de la couleur observée (Boulton, 2001).

Au Japon, le KONARC a obtenu par amélioration génétique conventionnelle des cultivars possédant des teneurs totales en anthocyanes de plus en plus élevées et des compositions relatives variables en ce qui concerne les huit anthocyanes majeures. Une étude portant sur 19 cultivars sélectionnés montre une grande variabilité des nuances de violet, qui peut tendre vers le rouge ou le bleu et être plus ou moins sombre ou brillant. Ces nuances sont corrélées à des teneurs en certains types d'anthocyanes. Par exemple, un cultivar violet tendra d'autant plus vers le rouge que son ratio anthocyanes de type péonidine sur anthocyanes de type cyanidine sera élevé. Avec un ratio inférieur à 1, on trouvera des cultivars qui tendent vers le bleu. Ce ratio varie de 0,02 à 24,6 (Yoshinaga *et al.*, 1999). Les auteurs montrent également qu'il est possible d'identifier ces cultivars à partir des proportions relatives des six anthocyanes majeures. Le cultivar *Ayamurasaki* serait riche en YGM-4, -5 et -6 (anthocyanes de type péonidine), alors que le cultivar *Murasakimasari* est plus riche en YGM-2 (anthocyane de type cyanidine) (Oki *et al.*, 2002 ; Yoshinaga *et al.*, 2006).

Teneurs et compositions en autres composés phénoliques :

Le groupe des acides chlorogéniques (Figure 13) est une sous-classe d'acides phénoliques intéressante puisque présentant une capacité anti-oxydante importante ainsi que diverses activités biologiques. Les principaux acides chlorogéniques généralement rencontrés chez la patate douce sont l'acide chlorogénique à proprement parler (3-caféoylquinique), le 4-caféoylquinique et les acides bicaféoylquiniques : l'acide 4,5-bicaféoylquinique, l'acide 3,5-bicaféoylquinique et l'acide 3,4-bicaféoylquinique. L'acide caféique a également été mis en évidence chez la patate douce (Harrison *et al.*, 2008 ; Kojima and Uritani, 1973 ; Padda and Picha, 2007, 2008). Une équipe italienne a également montré la présence des mêmes dérivés d'acides caféique plus l'acide 1,3-bicaféoylquinique, jamais isolé chez les *Convolvulaceae*, ainsi que l'acide 4,5-bicaféoyldaidique qui n'avait encore jamais été identifié. Ce composé nouvellement identifié aurait un pouvoir anti-oxydant supérieur aux standards classiques, comme l'acide gallique par exemple (Dini *et al.*, 2006).



acide chlorogénique (5-caféoylquinique)
 acide 3,5-bicaféoylquinique
 acide 3,4-bicaféoylquinique
 acide 4,5-bicaféoylquinique

Figure 13 : Structure moléculaire des acides chlorogéniques majeurs de la patate douce d'après Suda *et al.* (2008)

Un acide tricaféoylquinique (3,4,5-tricaféoylquinique) a été isolé, mais cette fois ci uniquement à partir de cultures cellulaires de patate douce (Konczac *et al.*, 2004). Il faut noter que certains acides comme l'acide chlorogénique ou l'acide 3,4-bicaféoylquinique n'ont pas toujours pu être détectés (Zheng and Clifford, 2008). Néanmoins un gradient d'acides phénoliques décroissant du centre vers l'épiderme de la racine a été relevé parmi 16 génotypes différents (Harrison *et al.*, 2008). En Europe et aux Etats Unis, entre 14 variétés commercialisées, les plus fortes teneurs en acide chlorogénique ont été observées chez les cultivars à chair blanche, alors que les plus fortes concentrations en isomères de l'acide bicaféoylquinique et en acide caféique ont été relevées chez des cultivars à chair violette (Padda and Picha, 2008). A titre d'indication, les teneurs en phénols totaux seraient de 945 mg d'équivalent acide chlorogénique/100gMF (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2002, 2003). Exprimées cette fois-ci en équivalent acide gallique (AG), ces teneurs varieraient de 14 à 43 mg(AG)/100gMB (Lako *et al.*, 2007). Cette même étude avance que les aglycones de flavonols analysés seraient la myricétine, la fysétine, la morine, la quercétine, le kaempférol et l'isorhamnétine, et seraient présents ou non d'un cultivar étudié à l'autre.

Enfin, les anthocyanes de patate douce montrent une forte activité anti-oxydante *in vitro* et *in vivo*, dépassant même celle du raisin, du chou rouge, du maïs violet et du sureau noir. Individuellement, les huit anthocyanes majeures affichent même une activité plus importante que celle de l'acide ascorbique (Kano *et al.*, 2005). Avec les acides phénoliques et les acides chlorogéniques, la contribution à l'activité anti-oxydante totale des anthocyanes dans des racines de patate douce à chair violette varie selon le cultivar (Oki *et al.*, 2002). Les teneurs en phénols totaux sont plus élevées pour les variétés à chair violette suivies des oranges, des jaunes et enfin des blanches (Teow *et al.*, 2007). Cependant, il convient de noter également que le mucilage, qui est un complexe glyco-protéique contribuerait à l'activité anti-oxydante totale mesurée (Huang *et al.*, 2006).

Ignames

La grande igname (*Dioscorea alata* L.) contiendrait trois anthocyanes correspondant à des glycosides de la cyanidine, la cyanidine-3,5-biglucoside, la cyanidine-3-glucoside et la cyanidine-3-rhamnoglucoside (Rasper and Coursey, 1967 ; Imbert and Seaforth, 1968). La couleur affichée par le mélange des anthocyanes de cette espèce serait parmi les plus stables à la chaleur (Hayashi *et al.*, 1996). Ceci serait corrélé à un nombre élevé de neufs anthocyanes différentes, présentes dans l'extrait, ainsi qu'à quatre molécules acylées sur les neufs. Les trois anthocyanidines glycosylées pourraient donc représenter la structure de base de ces anthocyanes. Dans des tubercules bouillis, on retrouve une concentration maximale d'anthocyanes totales de 0,47 mg(C3G)/100gMB chez *D. alata*, de 0,09 chez *D. esculenta* mais elle n'est pas détectée chez *D. nummularia* (Lako *et al.*, 2007). L'activité anti-oxydante supérieure pour les variétés rouges de *D. alata* et *D. esculenta*, par rapport aux variétés blanches, est potentiellement à rapprocher à des teneurs supérieures en anthocyanes totales.

En ce qui concerne les phénols totaux, une variation des teneurs pour des cultivars de *D. rotundata* et de *D. alata*, avec des coefficients de variation respectivement de 17 et 33%, est observée au Bénin (Akissoe *et al.*, 2005). Ces travaux sur la farine d'igname blanchie n'ont pu détecter d'anthocyanes et les auteurs avancent l'hypothèse que les anthocyanes pourraient être complexées sous forme méthylée, hydroxylée, glycosylée ou acylée, et donc ne plus avoir une longueur d'onde d'absorption à 520nm. Toujours sur de la farine, ces phénols totaux affichent des valeurs allant de 0,9 à 1,4 $\mu\text{M(AG)}/\text{gMS}$ pour *D. rotundata* et 1,8 pour le cultivar de *D. alata* "Florido". Cette étude montre également que ces teneurs sont corrélées à trois caractéristiques majeures de l'*amala* béninois (pâte obtenue à partir de farine d'igname) : l'aspect sombre, l'amertume et le goût grillé (Mestres *et al.*, 2004).

Les aglycones de flavonols des ignames ont été étudiés et révèlent la présence de faibles quantités de myricétine et de quercétine chez *D. alata*, de myricétine et de kaempférol chez *D. esculenta* et de fysétine, quercétine et kaempférol chez *D. nummularia* (Lako *et al.* 2007). Malgré une activité anti-oxydante élevée, le cultivar de *D. nummularia* étudié ne présente pas d'anthocyanes, et cela est reflété par des teneurs en aglycones plus importantes. *Dioscorea rotundata* contiendrait moins de catéchine (0,26 $\mu\text{M}/\text{gMS}$) que *D. alata* (0,42 $\mu\text{M}/\text{gMS}$), et il en va de même pour l'acide férulique pour lequel a été détecté respectivement 0,028 et 0,037 $\mu\text{M}/\text{gMS}$ (Akissoé *et al.*, 2005). Quant à *D. bulbifera*, elle contiendrait des acides oxalique, malique, citrique et surtout succinique et des phénols totaux à hauteur de 166 mg de phénols par 100gMF (Bhandari and Kawabata, 2004).

Enfin, une étude menée chez *D. batatas* (synonyme de *D. opposita*) montre la présence d'une protéine nommée dioscorine qui présente une activité anti-oxydante et qui pourrait participer à l'activité mesurée dans les tubercules (Hou *et al.*, 2001). Cette protéine représenterait également 90% des protéines hydrosolubles chez *D. alata* (Hou *et al.*, 2000).

Aracées

Trois anthocyanes ont été identifiées chez le taro dans la chair du corme, par chromatographie sur couche mince et spectrophotométrie : la pélargonidine-3-glucoside, la cyanidine-3-rhmnoside et la cyanidine-3-glucoside. Comparée au raisin, il s'agirait d'une espèce à faible teneur en anthocyanes. Dans ce cultivar hawaïen, les teneurs en anthocyanes sont environ trois fois plus importante au niveau de la peau que dans le pétiole et la chair, où elles sont équivalentes (Ghan *et al.*, 1977). Récemment, une étude japonaise montre que l'anthocyane

majeure contenue dans le pétiole du taro, consommé comme légume, est la cyanidine-3-rutinoside (Terasawa *et al.*, 2007). Aucune anthocyane n'a été détectée dans les cultivars de taro étudiés aux îles Fidji alors que chez le macabo 0,62 mg(C3G)/100gMB sont élevés. Sur trois cultivars, un seul présente comme aglycones de flavonol, de la quercétine et du kaempférol (Lako *et al.*, 2007). Une étude menée en Inde sur des cultivars améliorés de taro, parfois colorés, révèle une importante variation intra-spécifique pour les teneurs en phénols totaux (Sundaresan, 2006).

Manioc

Aucune anthocyane n'a été isolée chez le manioc. En ce qui concerne les autres composés phénoliques, ils ont essentiellement été étudiés au cours de la détérioration post-récolte qui représente une des contraintes majeure à sa conservation. Les composés phénoliques mis en évidence lors de cette réponse sont la scopolétine, la scopoline, l'esculine, des pro-anthocyanidines, la (+)-catéchine et la (+)-gallocatéchine (Rickard, 1985 ; Tanaka *et al.*, 1983). Les teneurs les plus élevées seraient atteintes par un flavanol, la catéchine. Enfin pour les phénols totaux, les racines bouillies de manioc varieraient de 11 mg, chez un cultivar à chair blanche, à 14 mg(AG)/100gMB chez un cultivar jaune (Lako *et al.*, 2007).

1.5 Les déterminants environnementaux et génétiques

Au niveau de la biosynthèse des anthocyanes (qui sont des phénols), la situation est plus complexe (Figure 10). On part de la phénylalanine vers la voie des phénylpropanoïdes, puis celle du shikimate, les métabolites secondaires synthétisés sont alors nombreuses et variées tout comme les ramifications. Les anthocyanes étant des polyphénols, impliqués dans de nombreux phénomènes physiologiques comme le développement ou la défense de la plante, le contrôle et les facteurs de régulation des gènes codant les enzymes impliquées sont très variées. Ainsi de nombreux facteurs environnementaux entrent en jeu et une forte intensité lumineuse, de basses températures ou encore un stress stimulent la production d'anthocyanes chez la pomme de terre, par exemple (Reyes *et al.*, 2004).

Un gène isolé récemment (*IbMYB1*) est exprimé de manière spécifique dans la chair des racines tubérisées de variétés violettes de patate douce. Il permet la régulation de la biosynthèse des anthocyanes, mais il n'a pas été détecté ni dans d'autres organes de ces variétés, ni dans la chair de variétés à racines d'autres couleurs, ni même dans l'épiderme de variété à peau violette (Mano *et al.*, 2007). De manière exceptionnelle chez les Angiospermes, des pigments contenant des anthocyanidines ont été mis en évidence au niveau de la paroi cellulaire du périderme d'une variété à peau violette (Philpott *et al.*, 2009). Chez ce clone, la synthèse de telles molécules destinées à être fixées à la paroi pourrait expliquer que l'on n'ait pas réussi à isoler le gène *IbMYB1*, important régulateur de la synthèse des anthocyanes de patate douce. A titre d'exemple, chez la myrtille (*Vaccinium myrtillus*), sur cinq des gènes codant des enzymes impliquées dans la biosynthèse (PAL, CHS, F3H, DFR, ANS, GPD), tous feraient partie de familles multi-géniques. De plus, l'expression de ces gènes serait tissu-spécifique et régulée dans le temps, comme chez le pois (*Pisum sativum* L.) ou le pétunia (*Petunia hybrida*) (Jaakola *et al.* (2002). Ces quelques études donnent donc une idée de la complexité observée au sein de cette grande famille de molécules.

Pour résumer, d'un point de vue intra-spécifique, les collections de plantes à racines et tubercules tropicales n'ont jamais réellement été étudiées pour la variabilité des teneurs en anthocyanes des variétés. Cependant, des travaux de caractérisation ont été réalisés sur des variétés de patates douces issues de travaux d'amélioration au Japon, et d'autres études ont porté sur certains cultivars pour les phénols totaux.

Les mêmes remarques que pour les caroténoïdes peuvent donc être faites. Le manque de standardisation des protocoles d'analyse et des unités de mesure rend les valeurs difficiles à comparer d'une étude à l'autre. Il faut aussi garder à l'esprit le spectre variétal des travaux effectués. Par exemple, Yoshinaga *et al.* (1999) ont travaillé sur 16 cultivars violets issus de lignées d'amélioration et Lako *et al.* (2007) n'ont travaillé que sur deux à trois cultivars par espèce. Ces travaux constituent donc des études relativement pauvres en diversité et ne peuvent illustrer significativement une variabilité intra-spécifique. De plus, chez ces plantes, aucune corrélation n'a jamais été faite entre les teneurs en anthocyanes et en phénols totaux et il convient d'estimer à sa juste valeur ces estimations réalisées par dosage *via* le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif met en évidence les phénols totaux (pas uniquement les polyphénols) mais il réagit également avec des acides aminés (comme la tyrosine et tryptophane), des protéines, des sucres réducteurs (comme le glucose et le fructose), l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (Singleton *et al.*, 1999).

Si des études ont porté sur les composés phénoliques, comme les anthocyanes, les flavonols, les acides cinnamiques et leurs dérivés, elles avaient généralement pour but la caractérisation des qualités nutritives ou agronomiques des RT (activité anti-oxydante ou facteurs limitant la commercialisation par exemple) mais elles ont toujours concerné un nombre limité de cultivars. D'après ces études, les variations sont exprimées à divers niveaux et la variabilité globale est donc fonction : de l'espèce, du cultivar, du clone, de la partie de la plante, de l'âge de la plante, mais aussi de l'environnement de culture.

Afin d'être le plus objectif possible dans les teneurs et compositions à déterminer, et de s'approcher le plus possible du type de variabilité que l'on veut étudier, il convient donc de contrôler autant que possible toutes les autres sources potentielles de variation. Pour obtenir un ensemble de données comparables, une standardisation est nécessaire et incontournable.

2. Exploration interspécifique des RT

Afin d'explorer donc un peu plus le potentiel des RT en termes de nutrition et de santé, mais aussi pour tenter de fournir aux améliorateurs des bases pour la biofortification, il est important de mesurer l'étendue de la variabilité des compositions et teneurs en composés phénoliques et surtout en anthocyanes. Cet article soumis au *Journal of Food Composition and Analysis* (28/11/2009) s'attache donc à explorer la variabilité inter- et intra-spécifique au sein de la collection des principales espèces de RT consommées au Vanouatou.

A notre connaissance, aucune étude de cet type n'a été réalisée et plus particulièrement pour la grande igname ou le taro, des espèces d'intérêt socio-économique local très important.

Diversity of anthocyanins and phenolic compounds among tropical root crops from Vanuatu, South Pacific

Antoine Champagne ^{a, b, *}, Ghislaine Hilbert ^c, Laurent Legendre ^{a, b}, Vincent Lebot ^d

^a Université de Lyon, F-69003 Lyon, France

^b Université de Saint-Etienne, LBVpam, EA3061, 23 rue Dr Paul Michelon, F-42000 Saint-Etienne, France

^c INRA, UMR1287 INRA-Bordeaux2, EGFV, BP81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

^d CIRAD UR 75, P.O. Box 946, Port-Vila, Vanuatu South Pacific

* Corresponding author: Tel: +33 661 551 048; Fax: +33 557 122 541.

E-mail adress: champagne_antoine@hotmail.com (A. Champagne)

Abstract

To study the composition and amounts of phenolic compounds in ten tropical root crop species consumed daily worldwide and particularly in South Pacific, acidified aqueous extracts were analysed. Among 134 samples, 78 components were found. Among total peaks detected from these fractions, three anthocyanins (YGM-6, petunidin-3-glucoside and pelargonidin-3-glucoside), five flavonols (hyperoside, isorhamnetin-3-glucoside, kaempferol-3-glucoside, quercetin-3-glucopyranoside and quercetin-3'-glucoside,6'-acetate), three flavanols (catechin, epicatechin and epicatechin-3-gallate), and three phenolic acids (caffeic acid, chlorogenic acid and 3,5-dicaffeoylquinic acid) were identified. Although many compounds remain to be identified, results suggest that these tropical root crops are good sources of anthocyanins and phenolic compounds. The greater yam (*Dioscorea alata*) had the highest anthocyanin content, while taro (*Colocasia esculenta*) had the widest range of flavonols. Cultivars of these staples should be exploited in breeding programs for the development of varieties with enhanced health and nutritional benefits.

Keywords: anthocyanins, agrobiodiversity, aroids, flavanols, flavonols, phenolic acids, sweet potato, yams

1 Introduction

In Melanesia and in the Vanuatu archipelago, staple foods are grown together in a traditional agroforestry system that is well-adapted to the tropical environment, the so-called Melanesian garden. To ensure their daily intake of carbohydrate-based energy, local farmers cultivate starchy fruits, such as bananas (*Musa* sp. L.), along with several tropical root and tuber crop species (Walter *et al.*, 2003). Root crops are probably the most important staple foods for poor smallholders all over the world particularly in Vanuatu where their consumption is among the highest in the world. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) and cassava (*Manihot esculenta* Crantz) are prominent root crops throughout the tropics, and taro (*Colocasia esculenta* Schott) and the greater yam (*Dioscorea alata* L.) -along with other minor yam and aroid species- are also important. In traditional Melanesian society, taro and the greater yam are the two main cultivated species and play a particular role in the traditional agrosystem, which is strongly associated with habits and customs. Because of socio-cultural requirements and traditional exchanges of germplasm, smallholders in this part of the South Pacific pay particular attention to

morphological variation, such as the colour of the flesh of underground organs, which is determined by their physical-chemical composition. Because root crops are staple foods, the organoleptic properties are of major concern. Primary compounds and secondary metabolites are involved in the palatability of traditional varieties. Colour, which is determined by secondary metabolites such as carotenoids and flavonoids, is an important trait to distinguish different cultivars. As new phenotypes are very valuable, this selection system has led local farmers to maintain and propagate remarkable agrobiodiversity.

Regarding secondary metabolites, the composition and amounts of carotenoids have already been studied and our previous experiments revealed tremendous intra- and inter-specific variation, which also appears to be of great concern (unpublished data). However, the study of carotenoids needed to be completed by an investigation regarding one of the largest groups of phytonutrients, (phenolic compounds) which also contribute to flesh colour and, indirectly, to human health. Phenolic compounds including flavonoids (e.g. anthocyanins, flavonols or flavanols) and phenolic acids (e.g. cinnamic acids, or cinnamic acid esters), are polyphenol plant metabolites which are considered to be valuable natural products. Phenolic compounds are likely to have different functional properties and vary dramatically among vegetables. On one hand, *in planta*, their physiological functions play an important role in plant defence against insects or pathogens including bacteria, fungi, and viruses. On the other hand, the human health benefits of consuming phenolic compounds, such as anthocyanins, are broad and have recently become the subject of an increasing number of studies. Among numerous highly desirable benefits, evidence suggests that phenolic compounds may protect the human body from oxidative stress by radical-scavenging, which can cause many disorders including certain cancers (Ding *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2001), cardiovascular diseases (Bell and Gochenaur, 2006; Ross and Kasum, 2002) or age-related neurodegenerative decline (Lau *et al.*, 2005). Interest in phenolic compounds has prompted research to explore their compositions and contents of many fruits and vegetables. Sweet potato has been reported to be a good source. It is thought that purple-fleshed sweet potatoes contain more phenolic compounds and have higher antioxidant value than orange or white-fleshed genotypes (Padda and Picha, 2008; Harrison *et al.*, 2008). The well-documented beneficial effects of the tea plant (*Camellia sinensis* L.), considered to be the leading antioxidant, are mostly attributed to polyphenols consisting mainly of flavonols and flavanols. However, there is a paucity of data regarding tropical root crops that is rather surprising considering their importance for food security and human nutrition.

Given the increasing interest in natural products, the food industry will most likely pay increased attention to these root crop species. In Japan, sweet potato has already been shown to contain highly acylated anthocyanins, which confer increased stability to this innocuous natural dye. Some varieties are now commercially exploited as a source of natural colorants and antioxidants by the food and beverage industry. However, in Japan, while 19 cultivars have been studied for anthocyanins, the leaves, stems and roots of only one cultivar were studied for phenolic acids (Yoshinaga *et al.*, 1999; Zheng and Clifford, 2008). One clone of *D. alata* is a good source of food dye currently used in the Philippines for making sorbets and confectionery. Improving the anthocyanin content of these crops is a challenge for the food colorant market. To our knowledge, no wide screening of the genetic potential of tropical root crops has been conducted for phenolic compounds, pointing to the need for exploratory analysis of phenolic compounds in these economically important staple foods.

The overall purpose of the present study was to analyse interspecific variability of anthocyanin and phenolic compounds in root crop species from Vanuatu germplasm collections, namely: sweet potato (*I. batatas*), cassava (*M. esculenta*), yams (*D. alata*, *D. bulbifera* L., *D. esculenta* L., *D. cayenensis* Lam., *D. pentaphylla* L.), taro (*C. esculenta*), cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) and giant taro (*Alocasia macrorrhiza* (L.) Schott). This work reports on the first exploratory screening of tropical root crop species for anthocyanins and phenolic compounds. The specific aims were to: i) describe a fully validated procedure to allow the characterisation of anthocyanins and the exploration of flavonols, flavanols and determine the composition and amount of phenolic acid in a single chromatographic step; and ii) establish a preliminary composition database for breeding programs working on the biofortification of improved root crop varieties with enhanced health and nutritional benefits.

2 Materials and methods

2.1 Growing conditions and samples preparation

All accessions (acc.) were grown in the same field at VARTC (the Vanuatu Agricultural Research and Technical Centre, Espiritu Santo, 15°23'S and 166°51'E) to minimize variations due to environmental factors. They were grown at the same time (one season) and their storage organs were harvested when fully mature to limit differences due to ontogeny. Germplasm mainly originated from Vanuatu but also included cultivars from South-East Asian countries and hybrids produced for breeding purposes. Traditional knowledge on local cultivars was recorded during interviews with farmers. Blind panel tests were conducted in a previous study to assess eating quality according to traditional preferences and knowledge (Bourrieau, 2000). The results were recorded in the germplasm database. To reinforce this assessment, all accessions maintained in collection have been evaluated in VARTC every year since 1998 and taste ratings have also been recorded by local staff of the root crop program.

A core-sample of 134 accessions from the VARTC germplasm collection was assembled to represent the full range of variation in phenotypic flesh colour of the storage organs. Overall, roots of 33 *I. batatas* cultivars (cvs), tubers of 20 *D. alata* cvs, tubers of 14 *D. bulbifera* cvs, aerial tubers (bulbils) of 13 *D. bulbifera* cvs, tubers of 11 *D. esculenta* cvs, tubers of 4 *D. cayenensis* cvs, tubers of 3 *D. pentaphylla* cvs, corms of 24 *C. esculenta* cvs, cormels of 7 *X. sagittifolium* cvs, corms of 3 *A. macrorrhiza* cvs, and tubery roots of 2 *M. esculenta* cvs were selected.

To assess the extent of variation in phenolic compounds within roots of a given cultivar, 10 roots of the same purple-fleshed Chinese sweet potato line (SPChina) were purchased on the local market.

Briefly, the storage organs were washed, peeled, cut longitudinally and then transversally into two equal parts of about 200 g of fresh weight (FW). The tuber was hand grated with a cheese grater and frozen in zip-lock plastic bags. Samples were freeze-dried using a TELSTAR Cryodos -50 (Terrassa, Spain) for two days. Dry matter was kept in paper bags sealed inside black polyethylene bags at -20°C until analysis. Every step of the procedure took place in a dark room to prevent photo-oxidation.

The moisture content of the samples was determined by drying 100 g of fresh grated matter in a ventilated oven at 60°C to constant weight.

2.2 Reagents and standards

Acetic acid (HPLC Analyzed), hydrochloride acid (Analyzed), acetonitrile (Ultra Gradient HPLC Grade) and methanol (HPLC Gradient Grade) were purchased from J.T. Baker (Phillipsburg, USA).

Petunidin-3-rhamnoglucoside, cyanidine-3-rhamnoglucoside (keracyanin), quercetin-3-rhamnoglucoside (rutin), quercetin-3-glucose,6-acetate, delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside (callistephin), cyanidin-3-galactoside (ideain), petunidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, malvidin-3-glucoside, quercetin-3-galactoside (hyperoside), quercetin-3-glucopyranoside, quercetin-3-rhamnoside (quercitrin), isorhamnetin-3-glucoside, kaempferol-3-glucoside, (-)epicatechin-3-gallate, cyanidin, pelargonin, quercetin, kaempferol, syringetin, isorhamnetin, myricetin, (+)catechin and (-)epicatechin were obtained from Extrasynthese (Genay, France). Caffeic acid, ferrulic acid, and chlorogenic acid were purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). Standard of 3,5-dicaffeoylquinic acid was kindly provided by Dr J.-L. Poëssel (INRA Avignon, France). An *I. batatas* anthocyanin standard, YGM-6 (peonidin-3-(6,6'-caffeylferulylsophoroside)-5-glucoside), was kindly provided by Prof. Terahara (Minami-Kyushyu University, Japan).

2.3 Sample preparation

The phenolic compounds were extracted from the solid parts of the storage organ using the method described by McDougall *et al.* (2007) but slightly modified. The optimized procedure was as follows: 2 g freeze-dried powder was homogenized in 15 mL of 7% acetic acid in milliQ water (v/v) using a polytron Biotrona 6403 (Küssnacht, Switzerland), knives were rinsed with 5 mL of 7% acetic acid in milliQ water then the 5 mL were pooled with the first 15 mL. Extraction took place in a capped opaque tube at room temperature overnight and under stirring.

As water used as an extraction solvent yields an extract with a high content of impurities, solid phase extraction (SPE) was used to eliminate non-phenolic compounds including organic acids, sugars, and soluble proteins, among others. Samples were purified and concentrated with a SPE system from Grace-Alltech, GracePure SPE C18-Max, 500 mg/3 mL (Columbia, USA). For each step of the purification procedure, samples were kept away from light and when possible, were maintained at 4°C. SPE columns were pre-treated with 3 mL of 0.1% HCl in methanol (v/v) and were balanced with 6 mL of 7% acetic acid in milliQ water (v/v). Residues contained in the extraction solution separated by centrifugation at 4°C, 4800 g, for 10 min. Supernatants were applied to the SPE column, and then bounded phenolics were washed with 6 mL of 7% acetic acid in milliQ water. In order to keep flavonoids in the red flavylum form which confers higher stability, they were eluted with 1 mL of 0.1% HCl (v/v) in methanol, prior to injection.

The recovery rate of the SPE procedure was calculated as the percent ratio between the quantity found after the purification step and the amount added as standard. The rate was 95.2% for cyanidin-3-glucoside, 92.2% for quercetin-3-glucoside, 93.0% for catechin and 90.1% for chlorogenic acid (expressed as the mean of triplicates). These rates were used to calculate anthocyanins, flavonols, flavanols and phenolic acids, respectively.

2.4 HPLC analysis

A volume of 20 μ L of the phenolic extract solution injected by an automated sample injector ASI-100 and gradient was performed with a HPLC pump P680, both from Dionex Co. (Sunnyvale, USA). Separation was performed on a reversed-phase Ultrasphere ODS column

250 x 4.6 mm, 5 μ m particle sizes fitted with an Ultrasphere C18 guard column 45 x 4.6 mm purchased from Beckman Coulter Inc. (Fullerton, USA). The column and guard column temperature was maintained at 25°C with an external oven Igloo-CIL Peltier C.I.L. (Sainte-Foy-La-Grande, France). Solvent A was composed of water and formic acid (90/10, v/v), and solvent B of water, acetonitrile, and formic acid (60/30/10, v/v). A binary gradient at 0.6 mL.min⁻¹ flow rate was used. The initial conditions were 75%A/25%B; 0-50 min, to 50%A/50%B; 50-56 min, to 100%B; 56-61 min, back to the initial conditions, and finally 61-85 min for re-equilibration. Phenolic compounds were monitored between 200 and 595 nm with an Ultra Violet - Visible (UV-Vis) Diode Array Detector (DAD) 340U Dionex Co. (Sunnyvale, USA). Data were collected and processed using Chromeleon software v.6.60 (Dionex Co., Sunnyvale, USA). For phenolic compounds seen on HPLC chromatograms of extracts, detection and quantification were based on their maximum absorption wavelengths (λ_{\max}): anthocyanins were detected at 520 nm, flavonols at 360 nm, flavanols at 320 nm, and phenolic acids at 280 nm. All compounds eluted in 65 min.

2.5 Peak characterisation and assignment

Identification and peak assignments of phenolic compounds were based on comparison of their order of elution, retention times and UV-Vis spectrometric data with that of pure standards and with previously published guidelines (Harborne, 2000; Hayashi *et al.*, 1996). Unidentified compounds were labeled as follows: a figure representing characteristic retention time (in minutes), preceded by A for anthocyanin, F for flavonol, C for flavanol and PA for phenolic acid (i.e. A13.03: Anthocyanin exhibiting a retention time of 13.03 min). Acylated anthocyanin peaks were identified based on absorption spectra at two λ_{\max} in 310-335 nm (Hayashi *et al.*, 1996).

Quantification was by external calibration with standard phenolic compounds when available. If unavailable, they were expressed in cyanidin-3-glucoside equivalent (CGE) for anthocyanins, quercetin-3-glucoside equivalent (QGE) for flavonol glycosides, catechin equivalent (CE) for flavanols. Calibration curves were obtained by injecting five different standard concentrations in triplicate and response coefficients were linear with $r > 0.99$. Peak purity was checked by monitoring the chromatographic eluates with the photodiode array detector.

For each sample, an approximation of the total anthocyanin content (TAC) was calculated by summing the area of the individual anthocyanin peaks exhibited on each chromatogram at 520 nm. The results of the calculation are expressed as milligrams of cyanidin-3-glucoside equivalents / 100 g of Fresh Weight (CGE/100gFW).

Since the amount and type of phenolic or organic acid acylation can be inferred from the UV spectrum, acylation pattern can be determined from the $A_{\text{ACYLmax}}/A_{\text{VISmax}}$ (Harborne, 1967). The A_{ACYLmax} is the peak in the 310 to 320 nm region. Similarly, -3- versus -3,5-glycosylation can be determined from the $A_{440}/A_{\text{VISmax}}$ (Hong & Wrolstad, 1990).

2.6 Data analysis

Coefficients of variation of the mean were calculated to provide a normalized estimate of the dispersion of a probability distribution of specific datasets and are reported as percentages (CV%).

3 Results and discussion

3.1 Protocol optimization

Sample extraction procedures are often regarded as a problem in analytical methods. Among the different procedures described in the literature, for our analyses we decided to use a method described by McDougall *et al.* (2007), slightly modified. This procedure allows the extraction of polyphenol compounds through the acidified aqueous fraction. This convenient SPE method allows concentration and purification, and avoids the use of time-consuming evaporation and vacuum filtration steps. In this way, we optimized a reliable extraction procedure that is reasonably reproducible from an analytical point of view. This procedure enabled analysis of chemotype fingerprints of water soluble compounds such as anthocyanins, flavonols, flavanols, cinnamic acid, or cinnamic acid esters.

3.2 Optimization of HPLC parameters

Because tropical root crops represent a wide range of phenolic composition, the optimization of the chromatographic conditions involved testing several mobile phases, gradient elution programs and column temperatures.

Different combinations of water, methanol and acetonitrile were evaluated as mobile phases. When methanol was used, the chromatographic peaks had minor resolution, limited efficiency and presented minor retention times (Fig. 1). We thus decided to use acetonitrile instead. Since chromatographic separation of anthocyanins is much more efficient by acidifying the mobile phase (Ibern-Gómez *et al.*, 2006), different amounts of the two most widely used acids reported in the literature, were tested and compared: chloride acid and formic acid. Formic acid was shown to be more effective for the separation of chromatographic peaks, and a concentration of 10% gave the optimum pH. Therefore, on the basis of the results obtained, the solvents chosen as optimum were water and water/acetonitrile, both acidified with 10% formic acid. The gradient elution program was also optimized to provide the best possible resolution of the different analytes among our 10 species. Particular attention was paid to numerous anthocyanins related to co-eluting peaks, for *I. batatas* and *D. alata*, which were satisfactorily separated under the conditions described above.

The temperature of the column is an important variable due to its influence on the stability of the analytes. At room temperature, it was not possible to achieve good repeatability in the retention times of the chromatographic peaks. We therefore decided to adjust the temperature of the column oven to 25°C (data not shown).

Table 1. Chromatographic characteristics and quantification of major peaks in 10 tropical root crop species.

Time (min)	λmax	A _{ACYL} /A _{VISmax}	A ₄₄₀ /A _{VISmax}	Nb Acyl	Nb Glyc	Family of molecules	Peak identity	Detection of phenolic compounds										
								A	Ce	Da	Db	Dbb	Dc	De	Dp	Ib	MXs	
7.19	276, 318s					flavanol	n.a.	X	X	X	X							
7.22	266					flavanol	n.a.	X		X								
8.37	277, 383s, 514	0.04	0.30	0	1	anthocyanin	n.a.										X	
9.88	279					flavanol	catechin	X	X	X	X							
10.89	297s, 326					phenolic ac.	chlorogenic acid				X						X	
11.24	280, 341					flavonol	n.a.	X	X									
11.40	278					flavanol	n.a.	X	X			X						
13.03	281, 323s, 524	0.10	0.26	0	1	anthocyanin	n.a.			X	X	X		X				
13.22	280					flavanol	n.a.	X										
13.43	281, 340, 515	1.47	0.06	+	2	anthocyanin	n.a.										X	
13.54	290, 340					flavonol	n.a.										X	
14.23	294s, 323					phenolic ac.	caffeic acid					X	X	X			X	
14.41	261, 382s, 528	0.08	0.16	0	2	anthocyanin	n.a.										X	
15.02	285, 338, 524	0.50	0.18	1	2	anthocyanin	n.a.			X								
15.36	272, 336					flavonol	n.a.	X										
15.62	280					flavanol	epicatechin	X		X	X	X	X	X			X	
16.97	277					flavanol	n.a.	X	X	X	X					X	X	
17.10	297s, 326					phenolic ac.	n.a.			X	X		X	X				
17.60	284, 330, 527	0.56	0.24	1	2	anthocyanin	n.a.				X	X						
17.61	279, 332, 428s, 501	0.14	0.42	0	1	anthocyanin	n.a.										X	
18.80	280, 426s, 516	0.02	0.24	0	2	anthocyanin	n.a.	X									X	
19.47	276, 357, 517	0.34	0.26	0	1	anthocyanin	n.a.	X										
19.53	272, 249					flavonol	n.a.	X								X		
21.10	277, 347, 523	0.04	0.24	0	2	anthocyanin	petunidin-3-glc					X						
22.31	280, 425s, 514	0.04	0.28	0	1	anthocyanin	n.a.				X	X						
22.60	278, 330, 422s, 500	0.12	0.42	0	1	anthocyanin	pelargonidin-3-glc										X	
22.96	274, 242					flavonol	n.a.	X										
22.97	262, 379s, 517	0.02	0.48	0	1	anthocyanin	n.a.									X		
23.05	326					phenolic ac.	n.a.			X				X		X		
25.64	271, 336					flavonol	n.a.	X								X		
25.75	280, 332, 425s, 501	0.10	0.44	0	1	anthocyanin	n.a.										X	
25.94	284, 331, 526	0.54	0.22	1	2	anthocyanin	n.a.			X	X	X		X				
26.78	285, 308s, 429s, 502	0.16	0.74	0	1	anthocyanin	n.a.	X										
26.84	281, 329, 520	0.58	0.10	1	2	anthocyanin	n.a.									X		
26.95	291, 333, 529	1.04	0.17	2	2	anthocyanin	n.a.			X								
27.98	285, 332, 522	0.68	0.20	1	2	anthocyanin	n.a.			X	X	X		X				
28.42	277					flavanol	epicatechin-3-gallate	X										
29.96	271, 338					flavonol	n.a.	X	X									
30.58	272					flavonol	n.a.	X										
31.04	267, 350					flavonol	n.a.	X								X		
32.02	280, 328s, 517	0.02	0.32	0	1	anthocyanin	n.a.	X									X	
32.29	287, 328	328				flavonol	n.a.			X								
32.44	271, 348					flavonol	n.a.	X	X								X	
33.31	267, 345					flavonol	n.a.	X										
35.29	288, 331, 536	1.32	0.08	+	2	anthocyanin	n.a.			X	X	X						
35.71	325, 532	4.17	0.08	+	2	anthocyanin	n.a.			X								
35.81	256, 356					flavonol	hyperoside	X	X		X	X					X	
36.63	269, 348					flavonol	n.a.	X										
37.56	271, 338					flavonol	n.a.	X								X		
38.41	256, 355					flavonol	n.a.	X	X	X	X							
38.80	283, 295, 329, 529	1.02	0.04	2	2	anthocyanin	YGM-6									X		

38.84	255,285s, 343, 527	1.41	0.22	+	2	anthocyanin	n.a.			X	X		
38.95	272, 337					flavonol	quercetin-3-glc(pyr)			X			
39.53	280, 315s, 377s, 524	0.20	0.44	0	1	anthocyanin	n.a.				X		
39.74	300s, 325					phenolic ac.	n.a.						X
40.49	276					flavanol	n.a.	X	X	X		X	X
41.10	279, 332, 521	0.20	0.12	0	2	anthocyanin	n.a.						X
41.42	303s, 327					phenolic ac.	n.a.	X		X	X	X	X
42.19	280, 293s, 328, 519	0.64	0.08	1	2	anthocyanin	n.a.						X
42.44	271, 347					flavonol	n.a.		X				
43.51	330					phenolic ac.	n.a.						X
45.11	274					phenolic ac.	n.a.	X	X			X	
46.39	265, 346					flavonol	n.a.		X		X	X	
46.64	256, 356					flavonol	quercetin-3'-glc,6'-acet			X			
46.73	269, 348					flavonol	n.a.		X				
47.63	286, 329, 524	1.11	0.09	2	2	anthocyanin	n.a.						X
48.79	270, 348					flavonol	n.a.		X				
52.28	274, 331, 522	0.52	0.06	1	2	anthocyanin	n.a.						X
52.75	265, 346					flavonol	isorhamnetin-3-glc	X	X		X	X	
53.49	305s, 325					phenolic ac.	n.a.						X
53.82	279					phenolic ac.	n.a.					X	X
54.00	280, 330, 521	0.46	0.12	1	2	anthocyanin	n.a.						X
55.12	266, 346					flavonol	kaempferol-3-glc				X	X	
57.23	301s, 329					flavonol	n.a.		X				
57.98	298, 326, 523	1.32	0.08	+	2	anthocyanin	n.a.						X
59.80	252, 294s, 346					flavonol	n.a.		X		X	X	
60.13	297s, 327					phenolic ac.	3,5-diCQ acid	X	X		X		X
61.47	290, 328					flavonol	n.a.			X			

Species: *A*: *A. macrorrhiza*, *Ce*: *C. esculenta*, *Da*: *D. alata*, *Db*: *D. bulbifera*, *Dbb*: bulbil of *D. bulbifera*, *Dc*: *D. cayenensis*, *De*: *D. esculenta*, *Dp*: *D. pentaphylla*, *Ib*: *I. batatas*, *M*: *M. esculenta*, *Xs*: *X. sagittifolium*

Retention time (Time), number of acylation (Nb Acyl), atypical acylation (+), number of glycosylation (Nb Glyc), non available (n.a.), glucose (glc), pyranoside (pyr), acetate (acet).

3.3 Reliability of sample preparation

Our preparation procedure was first tested by observing variations in anthocyanin and phenolic compound contents within storage organs of a given cultivar. Extracts of 10 roots of a single purple-fleshed *I. batatas* variety (SPChina) were analyzed. Every 10 chromatogram profiles were scrupulously checked and no differences were observed in the composition of the peaks. The three biggest peaks of each family of phenolic compounds we studied were carefully monitored (peak characteristics are listed in Table 1). Coefficients of variation in anthocyanins, flavonols and phenolic acids did not exceed 5.8%, 5.8% and 5.2% respectively (Table 2). These low values (including analytical error), indicate that the amounts of phenolic compounds observed in the different roots of a given plant, or in different roots of plants of the same cultivar, are very similar.

Variations in the amount of phenolic compounds in the different storage organs of a given cultivar were also estimated (chemotypes are described below in sections 3.3, 3.4, 3.5). Measurements of three extracts from typical cultivars from our core-sample within particular species were compared. Chromatographic profiles were carefully verified and revealed no changes in the amount of phenolic compounds in a given sample. Data in Table 3 show coefficients of variation lower than 5.9 % for every three major peaks of each family of phenolic compounds studied. By evaluating variation in representative samples, we showed that the preparation and extraction procedures used in the present study ensure a fairly good estimate of the composition and amount of phenolic compounds of all the underground storage organs.

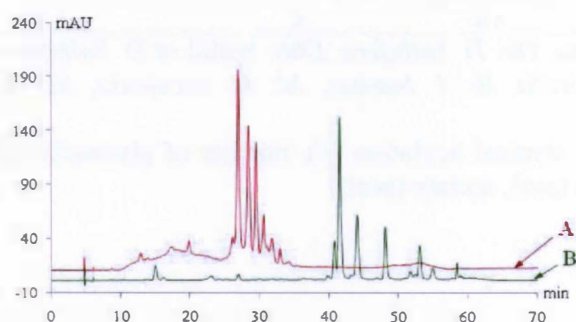


Figure 1. HPLC separation profiles of anthocyanin extracts of *Ipomoea batatas* (SPChina) using methanol (A) and acetonitrile (B). Detection was at 520 nm. The same quantity of dry matter equivalent was injected.

3.4 Variability of composition and amount of anthocyanins

As shown by the representative chromatographic profiles in Figure 2E (recorded at 520 nm), aqueous acidified extracts from *I. batatas* cultivars exhibited the greatest diversity in anthocyanins. A total of 27 peaks were observed among the 33 cultivars studied. No less than 16 different compounds were positively identified as anthocyanins based on UV-Vis spectrum data, including 12 major compounds (Table 1). The percentage area of individual anthocyanins is also listed to illustrate the diversity of chromatograms. For example, the three most highly coloured cultivars, (A41.10 and A47.63) varied from 6. to 24.0% and traces up to 21.4% of the total peak area. To our knowledge, 13 anthocyanins have been previously identified in the flesh of *I. batatas* roots (Goda *et al.*, 1997; Otake *et al.*, 1992; Oki *et al.*, 2003; Suda *et al.*, 2003).

Table 2. Variation in the composition and amount (CV%) of phenolic compounds between three extracts within species

Compound	<i>C. esc</i> corn		<i>D. ala</i> tuber		<i>D. bul</i> tuber	<i>D. bul</i> bulbil	<i>D. esc</i> tuber	<i>I. bat</i> root		<i>X. sag</i> cornel
	VU210	Abe1895	SalR	Van1989	Mal1011	AND19	San1180	EpiJulie	104	VU9
Anthocyanins										
A13.0							2.97			
A17.6										3.47
A18.8	5.81	n.d.								2.56
A25.7										0.73
A25.9			5.77	5.52	5.30	4.19				
A28.0			3.82	1.36	1.17	3.33	4.38			
A32.0	4.20	n.d.								
A35.7			1.26	4.20						
A38.8					1.20	0.66				
A41.1								3.86	1.82	
A47.6								5.69	3.95	
A54.0								3.14	1.51	
Flavonols										
F13.5								n.d.	0.76	
F19.5	5.78	1.40								
F32.3										0.41
Hyperoside	3.68	2.47			1.34	n.d.				5.68
F46.4					3.22	3.12				
Isorh.-3-glc	3.01	2.58			1.26	2.20				
F61.5			4.34	4.50						
Flavanols and Phenolic acids										
C7.2			1.65	1.26						
Catechin	2.66	2.31			0.15	0.94				n.d.
Epicatechin					5.11	2.96				
Caffeic acid							2.78			
C17.0	0.89	4.49			n.d.	3.82	1.03			
PA17.1										
PA23.0			1.26	n.d.						
Chlorogen. ac.								0.56	0.58	
PA41.4								2.00	3.42	
3,5-diCQ ac.	2.15	5.22						4.63	1.97	
CV% max	5.81	5.22	5.77	5.52	5.30	4.19	4.38	5.69	3.95	5.68

C. esculenta (*C. esc*), *D. alata* (*D. ala*), *D. bulbifera* (*D. bul*), *D. esculenta* (*D. esc*), *I. batatas* (*I. bat*), *X. sagittifolium* (*X. sag*), Isorhamnetin-3-glucoside (Isorh-3-glc), Chlorogenic acid (Chlorogen. ac.), 3,5-diCaffeoylQuinic acid (3,5-diCQ ac.), compound not detected (n.d.)

Due to the lack of available standards, except for YGM-6, the exact identity of anthocyanins found in our samples could not be determined. Nevertheless, our data revealed the major spectral characteristics of each compound monitored by the on-line DAD. Using tandem mass spectrometry, Tian *et al.* (2005) detected and characterized 26 anthocyanins from the aqueous extract of a purple cell line from the storage root of the cultivar “*Ayamurasaki*”. However, the present study conducted on tuberized root flesh is the first investigation to reveal such a broad range, indicating that cultivars from Vanuatu display great variability in the composition and amount of anthocyanins.

To a lesser extent, *D. alata* cultivars also exhibited great diversity. Out of the 17 peaks detected in our core sample, 13 were identified as anthocyanins including seven major ones (Fig. 2A). Despite differences in composition, particular attention was paid to one component that

represented more than 50% of the total area of anthocyanin peaks (and up to 79.3% in A25.94) in all genotypes. Only two previous studies have reported the identification of glycosilated anthocyanidins corresponding to cyanidin-3,5-diglucoside, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rhamnoglucoside (Rasper and Coursey, 1967; Imbert and Seaforth, 1968). These molecules were not detected in our cultivars. In purple-fleshed *D. bulbifera* cultivars (Fig. 2B-2C), up to nine different anthocyanins were discovered in tubers (as well as in bulbils), including petunidin-3-glucoside and seven other major ones. In particular, among tubers and bulbils, A27.98 peaks varied between 41.8% and 73.0% of total peak area. Regarding anthocyanin diversity, the purple-fleshed *D. esculenta* cultivars exhibited three major compounds (Fig. 2D). To the best of our knowledge, no other study has characterized anthocyanins of *D. bulbifera* and *D. esculenta*.

Chromatograms of purple corms and cormels of *C. esculenta* and *X. sagittifolium* cultivars displayed five peaks, including three and four major peaks respectively (Fig. 2F-2G). The biggest peak found in the *C. esculenta* purple-fleshed genotype, representing 57 to 74.5% of the total peak area, was A18.80. In *X. sagittifolium* the biggest peak was A25.75, with a constant area of between 80.8 and 85.1%. Only one study identified anthocyanins in *C. esculenta* as pelargonidin-3-glucoside, cyanidin-3-rhamnoside and cyanidin-3-glucoside (Chan and Kao-Jao, 1977). However our data only revealed the presence of pelargonidin-3-glucoside in *X. sagittifolium* and not in *C. esculenta*. Our study also represents the first analysis of *X. sagittifolium* anthocyanins.

Among the anthocyanins partially characterized in Table 1, very few were shared between species and were present in the two botanical families, *Dioscoreaceae* and *Araceae*. First, A13.03, A25.94 and A27.98 were displayed by all purple fleshed cultivars of yam (*D. alata*, *D. esculenta*, tubers and bulbils of *D. bulbifera*) indicating a high degree of conservation for this compound among the *Dioscoreaceae*. Second, A18.80 and A32.02 were found in *C. esculenta* and *X. sagittifolium* cultivars. These kinds of specifically shared molecules represent interesting chemical markers for species. No anthocyanin was found in the flesh of our cultivars of *M. esculenta*, *A. macrorrhiza*, *D. cayenensis* and *D. pentaphylla*.

Huge variability in anthocyanin contents was also revealed among the tropical root crop species studied here (illustrated by maxima presented in Table 3). This is particularly noteworthy for deeply coloured *D. alata* cultivars displaying the highest TAC approximations, as well as the highest content of the biggest peaks in accordance with the proportion of the compounds (described in the sub-section on composition above). To our knowledge, only one study (Lako *et al.*, 2007) analyzed anthocyanin content in two *D. alata* cultivars and the red-fleshed one was reported with a TAC of 0.47 mg CGE/100 g of boiled tuber. Our results showed that the widely consumed greater yams in Fiji had lower anthocyanin contents than those from the Vanuatu germplasm collection. According to the TAC approximation, anthocyanins were found to represent almost 0.1% of dry matter in our most highly coloured cultivars. Tubers of *D. bulbifera* and tubery roots of *I. batatas* also featured considerable amounts of anthocyanins. Expressed in dry weight, *D. bulbifera* ranked first, while expressed in fresh weight *I. batatas* ranked first (Table 3). Lako *et al.* (2007) did not report the presence of anthocyanins in *I. batatas* cultivars from a local Fijian market. For the purpose of comparison, red-fleshed *I. batatas* TAC was reported to range from 1.7 to 53.1 (Teow *et al.*, 2007) and up to an exceptionally high 243 mg CGE/100 g FW (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2002). So, in terms of anthocyanin content, the highest concentrated *I. batatas* cultivars from Vanuatu can be considered to represent mid-range values.

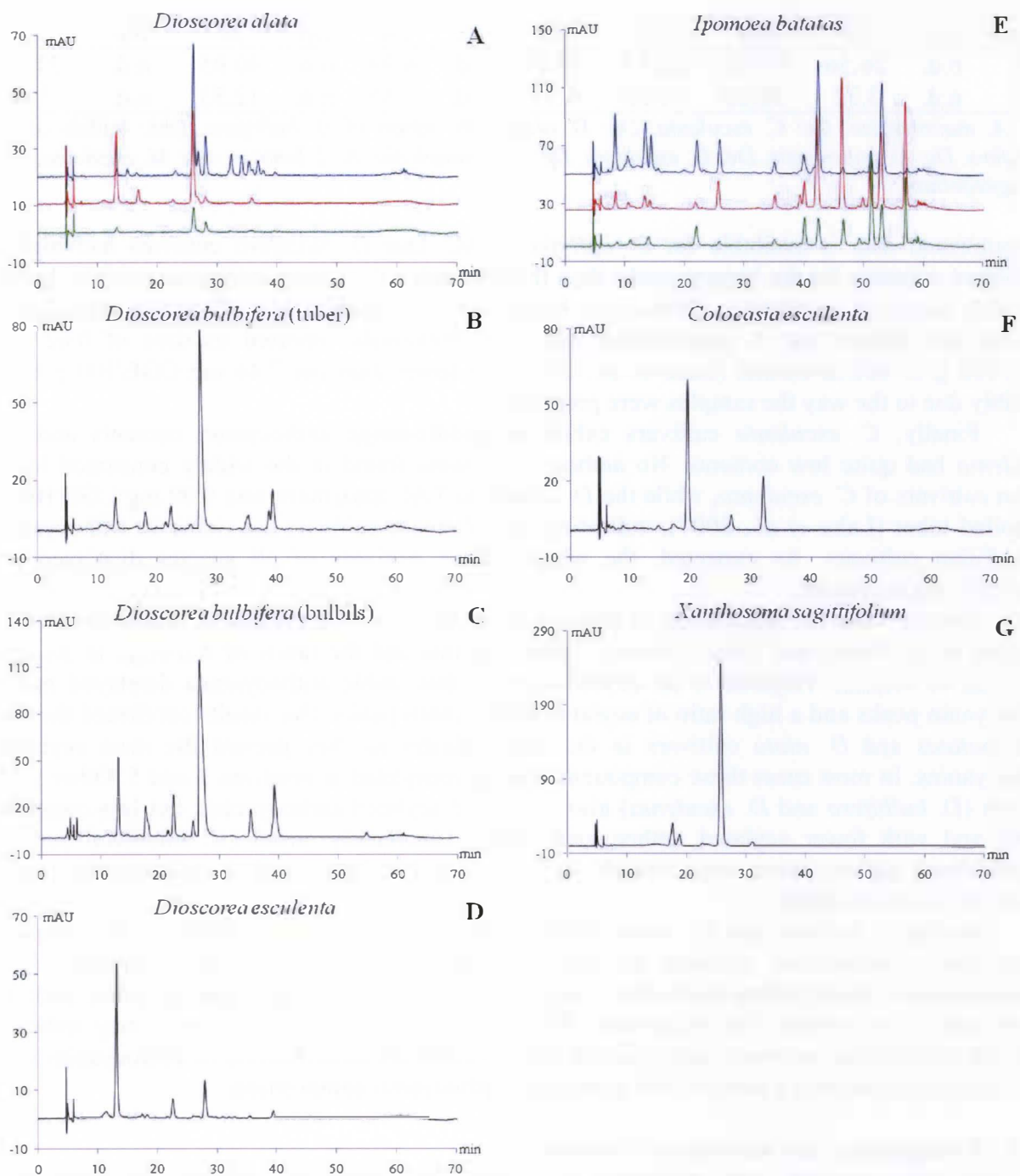


Figure 2. HPLC profiles of typical chemotypes of anthocyanin extracts of tropical root crop species. Detection was at 520 nm. The same quantity of dry matter equivalent was injected.

Table 3. Variation in total anthocyanin content among 10 tropical root crop species represented by maxima (in CGE/100g)

Matter	<i>Am</i>	<i>Ce</i>	<i>Da</i>	<i>Db</i>	<i>Dbb</i>	<i>Dc</i>	<i>De</i>	<i>Dp</i>	<i>Ib</i>	<i>Me</i>	<i>Xs</i>
DW	n.d.	26.56	93.32	64.17	34.84	n.d.	6.39	n.d.	40.95	n.d.	37.77
FW	n.d.	3.32	26.60	11.53	6.11	n.d.	1.55	n.d.	12.53	n.d.	7.44

Am: *A. macrorrhiza*, *Ce*: *C. esculenta*, *Da*: *D. alata*, *Db*: tubers of *D. bulbifera*, *Dbb*: bulbils of *D. bulbifera*, *Dc*: *D. cayenensis*, *De*: *D. esculenta*, *Dp*: *D. pentaphylla*, *Ib*: *I. batatas*, *Me*: *M. esculenta*, *Xs*: *X. sagittifolium*

No published data is available for *D. bulbifera* TAC. Our *D. bulbifera* cultivars had higher individual contents for the biggest peaks than these found in *I. batatas* cultivars, possibly due to the wide range of substances. Water-rich bulbils of *D. bulbifera* also displayed high TAC, ranking just behind our *X. sagittifolium* cultivars. Previously reported maxima of 0.62 mg CGE/100 g of boiled cormel (Lako *et al.*, 2007) are lower than our 7.44 mg CGE/100 g FW, possibly due to the way the samples were prepared.

Finally, *C. esculenta* cultivars exhibited middle-range anthocyanin contents and *D. esculenta* had quite low contents. No anthocyanins were found in the widely consumed local Fijian cultivars of *C. esculenta*, while the *D. esculenta* TAC maximum was 0.09 mg CGE/100 g of boiled tuber (Lako *et al.*, 2007), indicating that Vanuatu cultivars are richer in anthocyanin than Fijian cultivars. As expected, the white-fleshed cultivars of all species displayed no detectable anthocyanins.

Spectral data are often used as indexes for anthocyanin identification (Harborne, 1967; Hayashi *et al.*, 1996) and Table 1 shows visible maxima and the ratios of $A_{ACYLmax}$ to A_{VISmax} and A_{440} to A_{VISmax} . Hayashi *et al.* (1996) showed that stable anthocyanins displayed many anthocyanin peaks and a high ratio of acylated anthocyanin peaks. Our results confirmed the use of *I. batatas* and *D. alata* cultivars in the food industry as they present the most acylated anthocyanins. In most cases these compounds were glycosylated at positions 3 and 5. Other yam species (*D. bulbifera* and *D. esculenta*) also contained acylated anthocyanins, but less complex forms and with fewer acylated anthocyanin peaks. Conversely, aroid (*C. esculenta* and *X. sagittifolium*) anthocyanins were thought to be less stable because their anthocyanins were shown to be non-acylated.

Vanuatu *I. batatas* and *D. alata* cultivars have been shown to display very complex anthocyanin composition patterns as well as high total and individual contents. This characterization distinguishes them from other crop species containing simple profiles, such as aroids and *D. esculenta*. The differential distribution patterns of anthocyanins may indicate different biosynthetic pathways and could be used to assist the identification of anthocyanins in a given sample, especially a sample with a complex anthocyanin composition.

3.5 Composition and amounts of flavonols

Our extraction method was optimized to enable the study of flavonol diversity and chromatographic profiles of the aqueous extracts monitored at 360 nm. Because acylated anthocyanins exhibit high absorbance at this wavelength, some flavonols may have been hidden by anthocyanins and consequently not analyzed in purple-fleshed cultivars.

According to the chromatograms presented in Figure 3, the root crop species featuring the greatest flavonol diversity was *C. esculenta* (Fig. 3E) with no less than 20 compounds positively

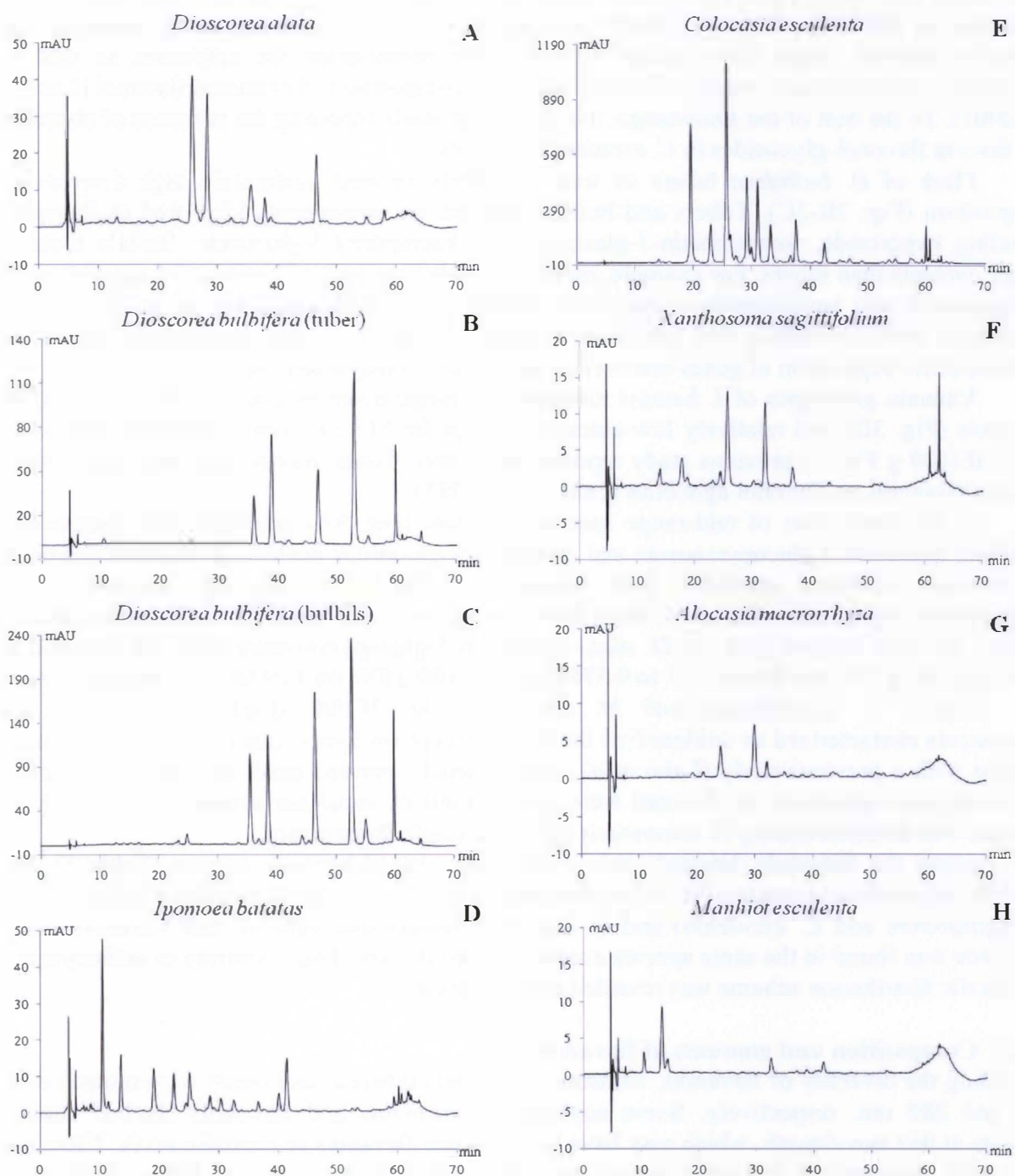


Figure 3. HPLC profiles of typical chemotypes of flavonol extracts of tropical root crop species. Detection was at 360 nm. The same quantity of dry matter equivalent was injected.

identified as flavonols, including hyperoside and isorhamnetin-3-glucoside. Several substances, such as F19.53 or F25.64, reached outstandingly high values, respectively 78.039 and 88.678 mg QGE/100 g FW, while F22.94 or F37.56 exhibited mid-range contents up to 35.001 and 24.094. Aglicones of flavonols, such as quercetin and kaempferol, have been previously reported. Our analytical method might allow access to real tissue composition for aglycones as well as glycosides, while previous work studied the aglycone composition of extracted flavonol (Lako *et al.*, 2007). To the best of our knowledge, this is the first study reporting the presence of abundant and diverse flavonol-glycosides in *C. esculenta* cultivars.

Flesh of *D. bulbifera* tubers as well as bulbils showed moderately high diversity in composition (Fig. 3B-3C). Tubers and bulbils featured six components identified as flavonols including hyperoside, isorhamnetin-3-glucoside and kaempferol-3-glucoside. Bulbils featured higher contents than tubers. For example, maxima in bulbils were 2.477 and 6.514 mg/100 g FW of hyperoside and isorhamnetin-3-glucoside, compared to 0.845 and 3.301 in tubers. Similar differences between bulbils and tubers were found for the four other compounds, indicating tissue-specific expression of genes involved in the flavonol biosynthetic pathway.

Vanuatu genotypes of *I. batatas* revealed mid-range diversity counting five unidentified flavonols (Fig. 3D) and relatively low amounts, except for F13.54 whose maximum was 4.273 mg QGE/100 g FW. A previous study reported myricetin, fisetin, morin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin, as flavonol aglicones (Lako *et al.*, 2007).

In the lower part of mid-range species, *D. alata* (Fig. 3A) exhibited five compounds, including quercetin-3-glucopyranoside and quercetin-3'-glucose,6'-acetate. In the same range, *A. macrorrhiza* cultivars exhibited four compounds (Fig. 3G) including hyperoside and isorhamnetin-3-glucoside. Flavonols from these two species were found in weak concentrations, ranging for their biggest peak, in *D. alata* (quercetin-3-glucopyranoside) from not detected to 0.395 mg/100 g FW and from 0.171 to 0.376 mg QGE/100 g FW for F29.96 in *A. macrorrhiza*.

Finally *X. sagittifolium* and *M. esculenta* (Fig. 3F-3H) displayed traces of two components characterized as unidentified flavonols, except for hyperoside in *X. sagittifolium*. In contrast with a previous study (Lako *et al.*, 2007), which revealed small amounts of myricetin and kaempferol aglicones, no flavonol were found in our *D. esculenta* accessions. Similarly no flavonol was detected among *D. cayenensis* and *D. pentaphylla* cultivars.

Among the flavonols detected, only a few were shared between species (Table 1). For example, hyperoside presented the widest distribution as it was found in Aroids (*A. macrorrhiza*, *X. sagittifolium* and *C. esculenta*) and *D. bulbifera* (tubers and bulbils), and isorhamnetin-3-glucoside was found in the same species except *X. Sagittifolium*. Thus, contrary to anthocyanins, no specific distribution scheme was revealed among species.

3.6 Composition and amounts of flavanols

Regarding the diversity of flavanols, cinnamic acids and cinnamic acid esters were monitored at 320 and 280 nm, respectively. Some acylated anthocyanins and flavonols showed lambda maxima at this wavelength, which may have hidden some flavanols or phenolic acids. Therefore the results presented in this study cannot be considered as exhaustive, and further analysis of chromatographic profiles is required.

In terms of flavanols, the greatest variability in composition and amount was observed in taro (*C. esculenta*) cultivars, which displayed nine components including catechin and epicatechin, of respectively up to 0.233 and 0.493 mg/100 g FW. These two identified

components were also found among the five *D. bulbifera* flavanols detected (tubers and bulbils) with respective maxima of 0.210 and 0.480 mg/100g FW for tubers, and 0.232 and 0.112 for bulbils.

In the same range, *D. alata* and *X. sagittifolium* displayed low amounts of four flavonols, the first including catechin and the second epicatechin. Three flavanols were found in *D. esculenta* and *A. macrorrhiza*, both with traces of epicatechin-3-gallate. *Ipomoea batatas* genotypes exhibited only one unidentified flavanol with up to 0.277 mg CE/100 g FW and none was found in our *D. pentaphylla* and *M. esculenta* cultivars.

Flavanols were widely distributed among the species studied. As illustrated by catechin and epicatechin (described above), C16.97 and C40.49 were also shared by five species (Table 1). However, like for flavonols, there was no particular distribution pattern among species. To our knowledge, very few studies have reported cinnamic compounds in storage organs and only in *D. alata* (Ozo *et al.*, 1984).

3.7 Phenolic acids

Regarding the composition and amounts of phenolic acids, the most were found in *I. batatas* with eight compounds, including positively identified chlorogenic acid, caffeic acid and 3,5-dicaffeoylquinic acid. Among the 33 cultivars analyzed, these components varied from not detected to 4.045, 0.146 and 0.265 mg/100 g FW. In accordance with our results, previously reported phenolic acids from sweet potato root flesh were individual caffeoylquinic acids, caffeic acid, chlorogenic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid and 4,5-dicaffeoylquinic acid (Ishiguro *et al.*, 2007). The major caffeoylquinic acids analyzed by these authors in four cultivars were 3,5-dicaffeoylquinic and acid chlorogenic acid. Small amounts of 5-O-caffeoylquinic acid (namely chlorogenic acid) were also found in *D. bulbifera* tubers, while caffeic acid was found in similar quantities in bulbils.

Stöckigt and Zenk (1974) reported that caffeic acid was converted enzymatically to chlorogenic acid in a two-step reaction, through formation of caffeoyl-CoA. Expression of genes coding these two enzymes could show a transcriptional activation by UV (Dixon and Paiva, 1995). So variations displayed by a particular genotype might indicate that repression of genes involved in the chlorogenic acid biosynthetic pathway occurs in aerial tubers. Caffeic acid was also found in small amounts in two other yam species, *D. cayenensis* and *D. esculenta*. Small quantities of 3,5-dicaffeoylquinic acid were found in tubers of *D. bulbifera* while *A. macrorrhiza*, *C. esculenta*, *D. pentaphylla* contained only traces. No phenolic acid was detected in our *X. sagittifolium* cultivars. In the same way as for flavanols, phenolic acids were relatively well shared among our species. As an example, 3,5-dicaffeoylquinic acid contributed to the composition of five species (described above in this section), as well as PA41.42 which was shared between *A. macrorrhiza*, *D. bulbifera* (tubers and bulbils), *D. cayenensis*, *D. pentaphylla* and *I. batatas*.

Except for *I. batatas* which has been fairly well studied, to our knowledge no published data is available on phenolic acids in tropical root crops.

Conclusion

This work described the results of explorative screening for phenolic compounds in large germplasm collections of tropical root crops species i.e. staple foods that are consumed daily by millions of people. The procedure we developed enabled rapid and reliable separation and exploration of a wide range of phenolic compounds (anthocyanin, flavonol, flavanol, and phenolic acids) contained in the aqueous fraction. We have shown that interspecific variation is surprisingly extensive, and within species, genotype is also an important factor affecting the composition and amounts of pigments as well as other phenolic compounds.

The greatest variation in total anthocyanin contents, as well as in individual anthocyanin, was measured in *D. alata* cultivars. In terms of composition (number of different anthocyanins per sample), the widest range of variation profiles in anthocyanin compounds was found in *I. batatas*.

For several root crop species this is the first study in which anthocyanins, flavonols, flavanols, cinnamic acids and cinnamic acid esters have been characterized and quantified. The highest amounts, as well as the most varied compositions of flavonols were found in *C. esculenta*, indicating an interesting source of healthy components.

We have shown that tropical root and tuber crop species from Vanuatu could represent a natural and inexpensive source of anthocyanins, as well as other phenolic compounds. It would thus be of great interest to identify them more accurately using mass spectrometry or nuclear magnetic resonance techniques. This work characterized the interspecific variability of the Vanuatu root crops germplasm in anthocyanin and phenolic compounds that could be useful for breeders, and public health organisations.

Acknowledgments

This work was partly funded by the *Fonds Français pour l'Environnement Mondial* (FFEM) and is a part of the Root Crops Agrobiodiversity Project in Vanuatu. We are grateful to Prof. Terahara (Minami-Kyushyu University, Japan) who kindly provided the YGM-6 sweet potato anthocyanin standard. We thank Dr J.-L. Poëssel (INRA Avignon, France) for the dicaffeoylquinic acid standard and for his assistance. Our thanks also go to the staff of the Root Crops Section of VARTC at Espiritu Santo.

References

- Bell, D. R., Gochenaur, K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin rich extracts. *Journal of Applied Physiology* 100, 1164-1170.
- Cevallos-Casals, B. A., Cisneros-Zevallos, L. (2002). Bioactive and functional properties of purple sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Acta Horticulturae* 583, 195-203.
- Chan Jr., H.T., Kao-Jao, T. H. C. (1977). Anthocyanin composition of taro. *Journal of Food Science* 42, 19-21.
- Ding, M., Feng, R., Wang, S. Y., Bowman, L., Lu, Y., Qian, Y., Castranova, V., Jiang, B.-H., Shi, X. (2006). Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *Journal of Biology and Chemistry* 281, 17359-17368.
- Goda, Y., Shimizu, T., Kato, Y., Nakamura, M., Maitani, T., Yamada, T., Terahara, N., Yamaguchi, M. (1997). Two acylated anthocyanins from purple sweet potato. *Phytochemistry* 44, 183-186.

- Harborne, J. B. (1967). Comparative biochemistry of the flavonoids. (pp. 1-383) London: Academic Press.
- Harborne J. B., Williams C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481-504.
- Hayashi, K., Ohara, N., Tsuku, A. (1996). Stability of anthocyanins in various vegetables and fruits. *Food Science and Technology International* 2, 30-33.
- Hong, V., Wrolstad, R.E. (1990). Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 708-715.
- Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., Waterhouse, A. L. (2002). Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 53, 218-225.
- Ishiguro, K., Yahara, S., Yoshimoto, M. (2007). Changes in polyphenolic content and radical-scavenging activity of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) during storage at optimal and low temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 10773-10778.
- Imbert, M. P., Seaforth, C. (1968). Anthocyanins in *Dioscorea alata*. *Experientia* 24, 445-447.
- Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., Joseph, J. A. (2005). The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. *Neurobiology of Aging* 26, 129-132.
- Lako, J., Trenerry, C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., Premier, R. (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101, 422 1727-1741.
- McDougall, G. J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart D. (2007). Anthocyanins from red cabbage - stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry* 68, 1285-1294.
- Odake, K., Terahara, N., Saito, N., Toki, K., Honda, T. (1992). Chemical structures of two anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry* 31, 2127-2130.
- Oki, T., Osame, M., Masuda, M., Kobayashi, M., Furuta, S., Nishiba, Y., Kumagai, T., Sato, T., Suda, I. (2003). Simple and rapid spectrophotometric method for selecting purple-fleshed sweet potatoes cultivars with a high radical-scavenging activity. *Breeding Science* 53, 101-107.
- Ozo, O. N., Caygill, J. C., & Coursey, D. G. (1984). Phenolics of five yam (*Dioscorea*) species. *Phytochemistry* 23, 329-331.
- Rasper, V., Coursey, D. G. (1967). Anthocyanins of *Dioscorea alata* L.. *Experientia* 23: 611-612.
- Ross, J.A., Kasum, C.M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition* 22, 19-34.
- Stanner, S. A., Hughes, J., Kelly, C. N. M., Buttriss, J. (2004). A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutrition* 7 (3), 407-422.
- Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S. (2003). Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *The Japan Agricultural Research Quarterly* 37, 167-173.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., Yencho, G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103, 829-838.
- Tian, Q., Konczak, I. & Schwartz, S. J. (2005). Probing Anthocyanin Profiles in Purple Sweet Potato Cell Line (*Ipomoea batatas* L. Cv. Ayamurasaki) by High-Performance Liquid

- Chromatography and Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 6503-6509
- Stöckigt, J., Zenk, H. (1974). Enzymatic synthesis of chlorogenic acid from caffeoyl coenzyme A and quinic acid. *Phytochemistry* 42, 131-134.
- Walter, A., Lebot, V., Sam, C. (2003). Jardins d'Océanie. Paris: IRD, 326 pp.
- Yang, C.S., Landau, J.M., Huang, M.T., Newmark, H.L., (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition* 21, 381-406.
- Yoshinaga M., Yamakawa O., Nakatani M. (1999). Genetic diversity of anthocyanin content and composition in purple-fleshed sweet potato (*I. batatas* (L.) Lam). *Breeding Science* 49, 43-47.

Résumé des résultats obtenus :

Ce travail visait à explorer les compositions et teneurs en composés phénoliques de dix espèces de RT (*I. batatas*, *M. esculenta*, *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. esculenta*, *D. cayenensis*, *D. pentaphylla*, *C. esculenta*, *X. sagittifolium* et *A. macrorrhiza*) représentées par 134 lyophilisats. L'échantillonnage représentatif est le même que pour le travail sur les caroténoïdes, et ces échantillons ont donc été sélectionnés pour illustrer la diversité phénotypique des couleurs observées dans les organes de réserve consommés.

Cette étude comparative a nécessité la mise au point et l'optimisation d'une méthode d'extraction, de purification et de séparation adaptées à l'étude de dix espèces qui contiennent de très nombreux composés différents. Son évaluation montre qu'elle est rapide, fiable et adaptée à la comparaison des échantillons.

La patate douce est aujourd'hui l'espèce la plus étudiée et elle est déjà exploitée pour ses anthocyanes. Nous avons montré que certains génotypes vanouatais de patate douce possèdent un plus grand nombre d'anthocyanes individuelles (jusqu'à 16) que les variétés commerciales utilisées comme source de colorant alimentaire au Japon. Ceci représente un potentiel très intéressant pour l'industrie agro-alimentaire, puisque la composition des mélanges d'anthocyanes détermine leur stabilité. Nous avons également montré qu'elles étaient majoritairement acylées, parfois même de manière complexe, ce qui renforce d'autant plus leur stabilité.

Dans une moindre mesure, nous avons montré des résultats similaires pour les anthocyanes de la grande igname (*D. alata*), elle aussi utilisée dans l'industrie agro-alimentaire, surtout aux Philippines. Ses pigments sont aussi relativement stables et nos génotypes en possèdent de grandes quantités. Parmi les 13 anthocyanes détectées, un composé (A25.94) paraît plus particulièrement intéressant à identifier puisqu'il représente dans tous nos génotypes à chair violette plus de 50% des anthocyanes totales. Les anthocyanes détectées dans les tubercules et bulbilles de *D. bulbifera* sont également abondantes et semblent assez bien acylées en comparaison avec les deux espèces utilisées comme source de colorants.

Chez *C. esculenta*, *X. sagittifolium* et *D. esculenta* les anthocyanes sont moins nombreuses et paraissent moins acylées.

Pour toutes les autres espèces (*A. macrorrhiza*, *D. pentaphylla*, *D. cayenensis-rotundata* et *M. esculenta*), aucune anthocyane n'a été détectée. Conformément à la littérature, les accessions de manioc n'ont présenté aucune anthocyane ni aucun flavonol et se sont révélées très pauvres en flavanols et acides phénoliques. Nous avons donc décidé d'analyser que deux accessions en plus des trois utilisées pour la mise au point.

La méthode que nous avons mis au point a permis d'explorer les teneurs et compositions en flavonols. *Colocasia esculenta* s'est révélé être une source impressionnante, tant en termes de diversité de composés qu'en termes de quantité rencontrées. Nous avons également montré que les tubercules et bulbilles de *D. bulbifera* contiennent également quelques flavonols. Des résultats similaires ont été révélés pour *I. batatas* et *D. alata* bien que les nombreuses anthocyanes peuvent avoir conduit à sous-estimer leur nombre.

A l'image des flavonols, avec neuf flavanols c'est *C. esculenta* qui en présente le plus, alors que *D. bulbifera*, *D. alata* et *A. macrorrhiza* n'en présentent même pas moitié moins. Les autres espèces en abritent peu : un seul chez *D. esculenta* et *I. batatas*, ou pas du tout comme chez *D. pentaphylla* et *M. esculenta*.

Comme rapporté dans la littérature, *I. batatas* a révélé un grand nombre d'acides phénoliques. Les tubercules de *D. esculenta* et *D. bulbifera* montrent des compositions

moyennes et les autres espèces ne présentent que deux à trois acides phénoliques. Notons, enfin, que certains flavanols et acides phénoliques ont pu être cachés par la présence d'anthocyanes ou flavonols.

Tous les composés étudiés ont montré une variabilité interspécifique, des teneurs et compositions réellement remarquables. D'un point de vue intraspécifique, les profils d'accumulation sont variés et certains génotypes apparaissent très riches. Grâce à notre échantillonnage standardisé, nous avons pu mettre en évidence un contrôle génétique. Ceci est important pour définir les bases d'une biofortification pour ces métabolites secondaires particulièrement intéressants.

Discussion sur les composés phénoliques :

De part leur fort taux d'acylation, les huit anthocyanes généralement rencontrés chez la patate douce correspondraient à des anthocyanes parmi les plus stables qui existent (Hayashi *et al.*, 1996). En effet, cette étude montre notamment que la patate douce contient les anthocyanes les plus stables aux rayons UV. En ce qui concerne la résistance à la dégradation par les rayons UV, il semble que seul le fort taux d'acylation soit favorable. Toutefois, cette étude montre aussi que les espèces présentant une meilleure résistance à la dégradation par la chaleur semblent correspondre à celles dont les profils présentent le plus grand nombre d'anthocyanes. En comparaison avec cette étude, nous avons montré qu'il existe au sein de la collection du Vanouatou, des profils parfois bien plus riches en termes de compositions que les variétés japonaises (une commerciale, la "*Tanegashima murasaki*" et deux développées par le KONARC, la "*Yamagawa murasaki*" et la "Kankei 55"). En plus d'un nombre élevé d'anthocyanes, certains des cultivars vanouatais contiennent une forte proportion de molécules acylées. Ces génotypes seraient donc très intéressants à évaluer dans les conditions de culture au Japon. Il est probable que certains se révèlent plus intéressants que ceux actuellement exploités par l'industrie des colorants alimentaires.

En ce qui concerne les anthocyanes de la grande igname (*D. alata*), elles sont déjà utilisées comme source de colorant dans l'industrie du sorbet aux Philippines. Quelques facteurs influant sur leur stabilité, et utiles aux procédés de fabrication, ont déjà été étudiés chez la variété d'igname à chair violette exploitée à cet effet (Tsukui, 1988, 1989 ; Tsukui *et al.*, 1989 ; Hayashi, com. pers.). Ces trois publications sont en japonais dans le texte mais l'on sait néanmoins que la stabilité des poudres produites à partir des tubercules a été évaluée en fonction : du pH, de la lumière, mais aussi des teneurs en oxygène, sels inorganiques, acides organiques, sucres, composés phénoliques, acide ascorbique et peroxyde d'hydrogène. L'amélioration des teneurs en anthocyanes dans des espèces présentant un tel intérêt économique représente un défi de taille.

La couleur de chair violette est en relation avec les teneurs en anthocyanes et peut être déterminée visuellement (Martí, 2003). Cette étude visait à tester la plus petite différence de teinte et de saturation différentiable à l'œil nu, sur la chair de 19 cultivars de patate douce. L'échantillonnage a été monté pour représenter la variabilité des couleurs qu'un sélectionneur peut observer. La caractérisation des couleurs était effectuée à l'aide d'un paramètre d'intensité correspondant à la luminance et de deux paramètres de chrominance qui décrivent la couleur. Ainsi pour pouvoir différencier correctement (avec 95% de certitude) deux nuances de couleurs parmi ces cultivars, l'observation de cinq racines par clone avec trois observations répétées par racine serait amplement suffisante. Il serait également très intéressant d'étudier ces paramètres chez l'igname, par exemple. Néanmoins, ceci laisse penser qu'une détermination visuelle est

possible, au moins par comparaison entre génotypes, et devrait permettre aux cultivateurs locaux d'effectuer leur propre sélection. Les améliorateurs pourraient affiner leurs mesures à l'aide de chromamètres portables.

En accord avec les études précédentes (Yoshinaga *et al.*, 1999), nous avons montré que les teneurs et compositions en anthocyanes chez la patate douce varient selon le génotype. Il en va de même pour les acides phénoliques (Harrison *et al.*, 2008) mais la variabilité des flavonols n'avait jamais été étudiée. Pourtant de nombreux travaux ont porté sur l'activité anti-oxydante de cette espèce (Furuta *et al.*, 1998 ; Huang *et al.*, 2006 ; Kano *et al.*, 2005 ; Oki *et al.*, 2002 ; Padda *et al.*, 2008 ; Philpott *et al.*, 2003 ; Teow *et al.*, 2007). Afin d'expliquer l'activité anti-oxydante, diverses corrélations sont établies avec les teneurs en anthocyanes et acide phénoliques mais aussi en triterpènes, les saponines (Dini *et al.*, 2009).

Il serait néanmoins intéressant d'évaluer si les flavonols, présents en quantité non négligeables dans certaines de nos accessions, pourraient participer à l'activité anti-oxydante mesurée chez la patate douce. Il convient en effet de noter qu'au cours de l'étude d'un cultivar à peau et chair jaune, l'activité anti-oxydante, tous comme les teneurs en composés phénoliques, montrent une augmentation quand la racine est bouillie à 95°C (Rabah *et al.*, 2004). De même, une cuisson à la vapeur pendant 45 min ne réduirait ni les teneurs en acides phénoliques, ni les teneurs en phénols totaux (Truong *et al.*, 2009). Ces propriétés conservées à la cuisson seraient donc intéressantes pour les cultures vivrières. C'est cette consommation au quotidien qui est l'objet de nos travaux et qui concerne des millions de gens.

Les composés phénoliques des ignames ont également été étudiés, en particulier en relation avec le brunissement de la chair observé quand on coupe certains génotypes (Akisoe *et al.*, 2005). Ce travail révèle que des flavanols et des acides phénoliques, principalement de la catéchine et de l'acide férulique, seraient responsables de ce brunissement sous l'action d'enzymes (polyphénols oxydases et peroxydases). Cependant nous n'avons détecté de catéchine que dans l'un de nos génotypes de *D. alata*, mais pas dans le cultivar de *D. rotundata* analysé. Par contre, nous l'avons mesuré en quantité variable dans nos accessions de *D. bulbifera*. De plus, nous n'avons détecté d'acide férulique dans aucune de nos accessions d'igname. Ceci est cohérent avec le fait que le cultivar de *D. rotundata* vanouatais ne présente pas de brunissement de la partie centrale du tubercule. Le cultivar de *D. alata* ne présente pas de brunissement non plus et ceci est probablement à rapprocher de faibles teneurs en catéchine.

Les hybrides de *D. alata* qui sont actuellement créés par le programme d'amélioration au Vanouatou pour rechercher de la résistance à l'anthracnose présentent malheureusement un très fort pourcentage de génotypes qui brunissent. Ce caractère semble provenir des génotypes parentaux originaires de l'Inde, utilisés pour obtenir de la résistance, et qui sont croisés avec les vanouatais qui eux sont de grande qualité mais sont très sensibles à l'anthracnose. Ce caractère de résistance aurait donc, semble-t-il, une très forte héritabilité.

Un rapide brunissement de la chair est aussi observé chez *D. bulbifera* (Bhandari & Kawabata, 2004) est il serait donc probablement lié aux teneurs relativement élevées en catéchine et épicatechine (annexe 3). Les flavonols présents dans cette espèce pourraient aussi être potentiellement impliqués dans ce phénomène.

La lyophilisation n'altère pas significativement les teneurs en composés phénoliques totaux, ni l'activité anti-oxydante chez l'igname (Hsu *et al.*, 2003). A l'inverse le séchage à l'étuve ou au soleil, comme le blanchiment même à 60°C et la transformation en farine réduisent les teneurs en flavanols et en acides phénoliques (Akisoe *et al.*, 2005). La farine d'igname pourrait

ainsi entrer dans la composition du pain, en augmentant sa capacité anti-oxydante (Hsu *et al.*, 2004). De plus, la lyophilisation préserve mieux ces molécules.

Notre protocole d'analyse passe par la lyophilisation qui reflète donc mieux le potentiel des accessions et nous avons montré que les teneurs en composés phénoliques sont sous contrôle génétique.

Dans notre travail, les accessions de manioc analysées se sont révélées très pauvres en composés phénoliques. Bien que des flavanols et autres flavonoïdes aient déjà été mis en évidence (Rickard, 1985 ; Tanaka *et al.*, 1983), ceci n'est pas en opposition avec nos résultats. Ces études montrent que ces composés sont impliqués dans la dégradation physiologique post-récolte mais aussi en réaction à une blessure, c'est à dire des phénomènes naturels de défense de la plante. L'absence de composés de ce type dans nos échantillons tend à montrer qu'ils ont été préparés correctement et assez rapidement pour que cette réaction physiologique n'ait eu le temps de se mettre en place.

Avancées réalisées :

L'échantillonnage étudié dans le cadre de notre travail représente le plus vaste criblage de collections représentatives jamais réalisé pour ces composés chez les RT. Les compositions analysées sont résumées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Récapitulatif des compositions en composés phénoliques des géotypes étudiés.

Espèce	Acc.	Anthocyanes		Flavonols	Flavanols	Acides phénoliques
		Nb.	TAT*			
<i>D. alata</i>	20	7	26,6	5	4	2
<i>I. batatas</i>	33	12	12,5	5	1	8
<i>D. bulbifera</i> (tubercules)	14	8	11,5	6	5	4
<i>D. bulbifera</i> (bulbilles)	13	8	7,4	6	5	2
<i>X. sagittifolium</i>	7	5	6,1	2	3	1
<i>C. esculenta</i>	24	4	3,3	20	9	2
<i>D. esculenta</i>	11	3	1,5	0	2	5
<i>D. cayenensis</i>	4	0	n.d.	0	1	3
<i>D. pentaphylla</i>	3	0	n.d.	0	0	2
<i>A. macrorrhiza</i>	3	0	n.d.	4	3	3
<i>M. esculenta</i>	2	0	n.d.	0	0	0

(Acc.) Nombres d'accessions analysées, (Nb.) Nombre de composés, (*) Teneurs en anthocyanes totales exprimées en mg(C3G)/100gMF.

Pour plusieurs de nos espèces de RT, notre travail représente une toute première exploration et caractérisation en termes de composés phénoliques : anthocyanes, flavonols, flavanols et acides phénoliques.

La patate douce est relativement bien étudiée pour ces anthocyanes (Suda *et al.*, 2003) et acides phénoliques (Zheng *et al.*, 2008) et de fortes propriétés anti-oxydantes ont été mises en évidence. Notre travail montre cependant que les racines tubérisées de cette espèce contiennent également des quantités non négligeables de flavonols. Ces composés sont également connus

pour leurs pouvoirs anti-oxydants (Chu *et al.*, 2000) et il est donc intéressant d'étudier la variabilité variétale.

Dans notre échantillonnage, c'est chez la grande igname (*D. alata*) que nous avons trouvé les plus fortes teneurs en anthocyanes totales, représentant en poids jusqu'à 0,1% de la matière sèche. Certaines variétés atteignent facilement en culture les 30 tonnes de matière fraîche par ha (pour environ 30% de MS). Ceci est également valable en termes d'anthocyanes individuelles. Un pigment attire plus particulièrement l'attention (A25.94) puisqu'il compte pour plus de 50% de la surface totale des pics chez tous les cultivars analysés.

Les compositions en anthocyanes les plus variables sont cependant observées chez la patate douce qui présente jusqu'à 12 anthocyanes majeures parmi les 16 identifiées comme des anthocyanes sur la base de leur spectre d'absorbance UV-Visible.

La stabilité des anthocyanes de la patate douce (*I. batatas*) et de la grande igname (*D. alata*) est relativement bien connue, cependant nous avons montré que celle de l'igname bulbifère (*D. bulbifera*) seraient également intéressante à étudier. Cependant, bien que cette espèce produise de nombreuses bulbilles rarement consommées, le brunissement particulièrement rapide après une coupe de la chair de cette espèce d'igname (apparemment lié à l'oxydation enzymatique de flavanols) pourrait probablement en limiter l'utilisation comme source de colorants alimentaires.

Sur une fraction aqueuse contenant des anthocyanes et flavonols, des flavanols et acides phénoliques peuvent être masqués par les spectres d'absorption de ces composés. En conséquence, il n'a pas été possible d'effectuer une analyse exhaustive *via* une méthode unique. Les cultivars vanouatais de patate douce présentent cependant une variabilité importante pour les teneurs en acides phénoliques.

En ce qui concerne les flavonols, le taro montre des valeurs très élevées tant en teneurs qu'en nombre de composés, atteignant 20 composés.

Nous avons donc montré que les RT constituent une source bon marché d'anthocyanes, autres flavonoïdes et acides phénoliques d'origine naturelle. Il serait dorénavant intéressant d'identifier précisément et de caractériser ces molécules, par exemple en termes d'activité anti-oxydante de manière à caractériser au mieux des clones potentiellement intéressants pour l'industrie agro-alimentaire.

Au vu des nombreux bienfaits sur la santé associés à la consommation de composés phénoliques, ce travail a permis d'identifier les espèces et les cultivars intéressants pour l'exploitation de leurs teneurs et compositions (annexe 3). D'une part, directement pour l'utilisation industrielle par sélection clonale des génotypes existants et d'autre part, pour la biofortification en métabolites secondaires. Néanmoins, il paraît essentiel de promouvoir et réaffirmer les bienfaits de ces aliments de base locaux, et plus particulièrement dans les pays du Sud qui, comme le Vanouatou, importent beaucoup de céréales.

Ce travail a porté sur les anthocyanes et autres composés phénoliques d'espèces de RT cultivées et consommées dans les pays du Sud. Les données produites seront utiles aux améliorateurs dans les démarches de biofortification, mais également aux nutritionnistes désireux de définir plus précisément les stratégies nutritionnelles.

Il est intéressant maintenant d'évaluer le potentiel d'amélioration génétique des chimiotypes *via* l'utilisation de croisements entre génotypes sélectionnés pour leurs valeurs propres.

CINQUIEME CHAPITRE : LA BIOFORTIFICATION



Variabilité des couleurs de chair de cormes de taro au Vanouatou

CINQUIEME CHAPITRE : LA BIOFORTIFICATION

Evaluation du potentiel d'amélioration génétique des chimiotypes de taro et de patate douce

Biofortification opportunities for
primary compounds, carotenoids and anthocyanins in
taro (*Colocasia esculenta* Schott) and sweet potato (*Ipomoea batatas* L.).

(en préparation pour soumission à *Field Crops*)

Champagne A., Legendre L. & Lebot V.

Résumé

La patate douce et le taro représentent des cultures alimentaires très importantes dans les pays du Sud et afin d'assurer la sécurité alimentaire, l'amélioration de leurs propriétés nutritionnelles est essentielle. L'objectif de ce travail était d'évaluer la méthode d'amélioration génétique communément employée pour ces plantes et d'en caractériser le potentiel en termes de biofortification. Pour ce faire, au sein de populations d'amélioration obtenues par croisements, les descendances ont été comparées aux parents pour les teneurs en composés majeurs (amidon, cellulose, minéraux, protéines, sucres), caroténoïdes et anthocyanes. Chez le taro, la méthode d'amélioration conduit globalement à une augmentation des teneurs en sucres et en caroténoïdes, et à la réduction des minéraux et anthocyanes. L'intervalle de variation diminue chez les hybrides et la même tendance est observée chez la patate douce, indiquant une focalisation des teneurs. Par contre, chez la patate douce, la seule augmentation claire est observée pour les sucres. Chez les hybrides, on observe des maxima plus élevées pour les teneurs en minéraux, cellulose et anthocyanes, mais plus faibles pour les teneurs en caroténoïdes. Néanmoins, la méthode d'amélioration appliquée à cette espèce hexaploïde encourage la création de diversité chimiotypique. Les résultats semblent indiquer que les maxima pour les potentiels d'amélioration ne sont pas encore atteints.

Mots-Clefs : anthocyanes, biofortification, composés majeurs, caroténoïdes, méthode d'amélioration, patate douce, taro.

Introduction

La biofortification est l'amélioration génétique des propriétés nutritionnelles des plantes *via* des croisements. Actuellement, les objectifs principaux de la biofortification sont d'une part, les composés majeurs, comme les protéines et les sucres et d'autre part, les métabolites secondaires comme les caroténoïdes (de type provitamine A) ou les anthocyanes. Dans les programmes internationaux d'amélioration, ces caractères bénéfiques pour la santé viennent progressivement affiner les idéotypes de la sélection agronomique classique. Ainsi le programme international "HarvestPlus" vise la biofortification en provitamine A, zinc et fer du manioc (*Manihot*

esculenta Crantz) et de la patate douce (*Ipomoea batatas* L.) parmi sept cultures majeures pour les pays du Sud.

Au Japon ou aux Philippines, les anthocyanes sont utilisées comme colorants alimentaires dans divers type de préparation telles que des boissons et des sorbets. Ces pigments font partie de classes de métabolites secondaires comme les caroténoïdes et les flavonoïdes. Divers travaux ont montré des bénéfices pour la santé. Brièvement, ils présentent des activités antiprolifératives pour certains cancers (Sthal and Sies, 2005 ; Yang *et al.*, 2001), ou de protection contre des maladies cardiovasculaires (Bell and Gochenaur, 2006) ou liées au vieillissement (Lau *et al.*, 2005 ; Mares *et al.*, 2006).

L'amélioration nutritionnelle de ces plantes qui constituent l'alimentation de base de millions de personnes sur la planète, souvent parmi les plus pauvres, représente aussi une étape primordiale face aux problèmes de sécurité alimentaire (FAO, 2009).

Puisque les plantes à racines et tubercules tropicales sont multipliées de manière végétative, les progrès réalisés par amélioration génétique sont relativement lents. Cependant, ce type d'approche permet l'obtention d'une forte variabilité, tout en étant facile et peu coûteuse à mettre en œuvre. C'est donc ainsi que se déroule la majorité des programmes d'amélioration dans les pays développés (par ex., Etats-Unis ou Japon), dans les centres internationaux (CIAT, CIP, IITA) et plus particulièrement dans les pays du Sud.

Les pollinisations libres, ou semi contrôlées, en blocs polyclonaux accompagnées de cycles de sélection récurrente représentent encore la méthode d'amélioration la plus utilisée. Cette méthode permet l'accumulation d'effets additifs dans les descendance de plein- ou de demi-frères mais la sélection réalisée sur les premières générations clonales demande beaucoup de temps. Ces programmes intègrent depuis de nombreuses années déjà, les principaux caractères agronomiques, tels que résistances aux pathogènes et ravageurs, rendements et aussi teneurs en matière sèche (souvent corrélées aux teneurs en amidon).

La sélection de parents et d'hybrides intéressants passe par le criblage de grands nombres d'accessions et les objectifs sont divers. Les idéotypes de l'amélioration actuelle ciblent une large gamme de métabolites et de propriétés recherchées pour la nutrition, la transformation et la santé humaine. Ceci est particulièrement remarquable pour la patate douce qui a été beaucoup étudiée dans le but d'améliorer les teneurs en composés fonctionnels comme les caroténoïdes, les anthocyanes, les fibres, les vitamines et les minéraux. A l'opposé, le taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) considéré comme une plante mineure, bien que cultivé sur près de deux millions d'ha, a été très peu étudié, malgré une sélection traditionnelle appliquée depuis des millénaires. Pour cette espèce, les quelques programmes d'amélioration qui existent sont donc conduits avec très peu de connaissances sur les potentiels d'amélioration. Néanmoins, des populations génétiquement variables sont produites de la même manière par croisements contrôlés ou semi-contrôlés, et donc les améliorateurs ont besoin que cette méthode soit plus précisément évaluée. Améliorer le phénotypage et le chimiotypage, impliqués dans le criblage de grands nombres d'accessions, permet de faire des progrès considérables, même en l'absence d'études de génétique d'association souvent très coûteuses.

La biofortification en composés majeurs est toujours très importante pour ces aliments amylacés de base. Nous avons montré que les relations entre composés majeurs, accompagnées de coefficients de variation (CV) remarquables, révèlent des opportunités (Champagne *et al.*, 2009). L'amidon est chez de nombreuses espèces de plantes à racines et tubercules corrélé négativement aux autres composés majeurs. Cependant, les idéotypes recherchés par

l'amélioration sont à l'image des préférences des consommateurs, c'est à dire divers. Par exemple, les compositions chimiques requises pour la préparation d'un bon *laplap* (et probablement d'un *foutou*) sont beaucoup plus contraignantes que pour la consommation quotidienne (bouillie ou braisée). Nous avons également mis en évidence des opportunités pour la biofortification en termes de pigments, en s'assurant que les couleurs ne sont pas négativement corrélées aux teneurs en composés majeurs intéressants.

Les plantes à racines et tubercules étant principalement cultivées pour leurs composés majeurs, l'évaluation de descendances permettrait de déterminer si l'efficacité de la méthode d'amélioration génétique couramment utilisée est toujours avérée. Il serait aussi intéressant d'évaluer son incidence en ce qui concerne les teneurs en métabolites secondaires, comme les caroténoïdes et anthocyanes, dans l'optique d'assister les améliorateurs.

Les objectifs du présent travail sont donc : i) de mesurer les avancées obtenues au sein de populations issues de sélection récurrente de manière à confirmer les potentiels d'amélioration des chimiotypes, ii) d'évaluer l'incidence de la méthode d'amélioration pour la biofortification en composés majeurs (amidon, sucres, protéines, minéraux, cellulose) et en métabolites secondaires (caroténoïdes et anthocyanes) et enfin, iii) de discuter les étapes à optimiser pour la sélection d'accessions potentiellement intéressantes.

Nous nous proposons d'étudier ces questions en comparant les résultats obtenus sur le taro (un diploïde) et la patate douce (un hexaploïde).

Matériels et méthodes

Conditions de culture :

Les populations d'amélioration, variétés parentales et hybrides, ont été cultivées au sein de la même parcelle à la Téouma (17°45'S/168°18'E, sur l'île d'Efaté au Vanouatou) pour réduire autant que possible les variations liées aux interactions génotype x environnement. Les accessions ont été plantées en même temps et récoltées à maturité afin de limiter la variabilité ontogénique.

Les taros ont été pulvérisés d'acide gibbérilique pour induire les floraisons (Ivancic et Lebot, 2000). Pour la patate douce, les croisements ont été réalisés par pollinisations libres en installant les parents sur tuteurs dans des blocs polyclonaux. La patate douce fleurit naturellement lorsque les jours deviennent courts et les blocs sont installés à partir du mois de Mai dans l'hémisphère Sud.

Origine du matériel :

Les variétés de taro sont principalement originaires du Vanouatou et ont été sélectionnées pour la qualité de leurs cormes (Bourrieau, 2000) mais comprennent également des génotypes du Sud-Est asiatique, collectés pendant le projet TANSO (*TARO Network for South-East Asia and Pacific*). Les deux pools génétiques ont été croisés pour produire une forte variabilité. De nombreux croisements contrôlés ont été réalisés et les descendances de plein-frères ont été mélangées, avant germination, pour donner des populations d'amélioration issues de parents génétiquement distants (Lebot *et al.*, 2004).

Pour la patate douce, la population d'amélioration est constituée de génotypes originaires du CIP à Bogor (Indonésie) introduits sous formes de graines en 1998, soumis à une très forte pression de sélection pour éliminer les plants sensibles à la galle (*Elsinoe batatas*) puis croisés avec les meilleurs variétés locales au cours de trois cycles de sélection récurrente.

Les hybrides de patate douce et de taro ont ensuite été sélectionnés au cours de générations successives (une séminale et trois clonales) pour les caractères agronomiques classiques :

- en génération séminale (plants issus de la graine), les hybrides des deux espèces sont sélectionnés essentiellement pour la vigueur. Pour la patate douce, elle concerne aussi la résistance à la galle (*Elsinoe batatas*). Pour le taro, cette sélection se fait en l'absence du champignon pathogène (*Phytophthora colocasiae*) qui n'a toujours pas été introduit au Vanouatou.
- en première génération clonale, les hybrides sont sélectionnés une deuxième fois pour ces mêmes caractères et une première évaluation est faite du rendement par pesée individuelle. Les hybrides de faible rendement par plant (< un kilo par plant) sont éliminés.
- en deuxième génération clonale (entre 5 et 10 plants par hybride), les mêmes caractères sont toujours évalués mais, en plus, les caractéristiques liées à la qualité font l'objet d'une attention particulière. Elles concernent la forme des cormes de taro et des racines de patate douce (les deux devant être lisses et sans déformation), la couleur de la chair (en favorisant les couleurs par opposition au blanc neutre peu attrayant pour les consommateurs locaux) et, enfin, la résistance à la coupe au couteau du corme ou de la racine fraîche (indicatrice de la teneur en matière sèche).
- en troisième génération clonale, les mêmes caractères sont re-évalués sur 10 à 20 plants (clones) par hybride et les organes de réserve des hybrides sont consommés par l'équipe technique locale pour apprécier le goût.

Ces appréciations, essentiellement qualitatives et visuelles, ont porté sur plusieurs milliers d'hybrides et près de 90% d'indésirables ont progressivement été éliminés au cours du processus de criblage. Enfin, nous avons comparé les hybrides sélectionnés (mais dont l'évaluation quantitative se poursuit de manière à réduire leur nombre), avec le groupe de leurs parents (des variétés) utilisés pour les croisements.

Echantillonnages et préparation des échantillons :

Les échantillonnages utilisés pour les études des composés majeurs, des caroténoïdes et anthocyanes sont présentés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Echantillonnages analysés pour les parents et les hybrides

Composés	Taro		Patate douce	
	Parents	Hybrides	Parents	Hybrides
Composés majeurs	66	45	37	146
Caroténoïdes et anthocyanes	79	34	7	56

Pour les composés majeurs, les racines tubérisées et les cormes ont été épeluchés, lavés, rapidement séchés sur un torchon et coupés en tranches transversales de 2 mm d'épaisseur. Les tranches ont été séchées à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant puis broyées et la poudre a été conservée en sac papier jusqu'à analyse.

Pour les caroténoïdes et anthocyanes, les racines tubérisées et les cormes ont été lavés, pelés sous l'eau et séchés rapidement sur un torchon et coupés longitudinalement et transversalement en deux parts égales. La moitié a été râpée à la main et congelées en sac

plastique fermé à -20°C. La matière congelée a été lyophilisée avec un lyophilisateur TELSTAR Cryodos -50 (Terrassa, Espagne) pendant deux jours. Les lyophilisats ont été conservés en sacs papiers scellés avec le moins d'air possible dans des sacs de polyéthylène opaque, puis conservés à -20°C jusqu'à analyse. Chaque étape s'est déroulée le plus rapidement possible et à l'abri de la lumière pour éviter l'oxydation.

Les teneurs en eau ont été déterminées sur la seconde moitié des échantillons (100 g) par séchage à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant.

Analyse des composés majeurs :

Les analyses ont été réalisées comme décrit par Champagne *et al.* (2009). Brièvement, les 150 g de poudre préparés sur l'île d'Efaté (Vanouatou) ont été envoyés en France où ont été réalisées les quantifications de l'humidité résiduelle, de l'amidon, des sucres totaux, des protéines, des minéraux et de la cellulose. L'humidité résiduelle a été déterminée par séchage à l'étuve selon le protocole NF (Norme Française) V 18-109 et les autres teneurs ont été calculées sur base de matière sèche (MS). Les teneurs en minéraux ont été estimées *via* la production des cendres à 550°C (NF V 18-101). La cellulose brute a été mesurée par la méthode de Weende (NF V 03-040) quantifiant le résidu organique non-soluble obtenu après traitements à l'acide sulfurique et alcalin. Les protéines ont été estimées par la méthode de Kjeldahl (NF V 18-100) *via* la quantification de l'azote total ($N \times 6,25$). Après extraction de l'amidon, les sucres totaux ont été mesurés par la méthode iodométrique classique de Luff Schoorl (CEE 98\54\CE). Les amidons ont été quantifiés par mesure polarimétrique après hydrolyse à l'HCl et filtration, suivant le protocole d'Ewers (NF ISO10-520). Toutes ces teneurs sont exprimées en pourcentages de MS.

Solvants et standards :

Acétone, méthanol et acide chlorhydrique ont été achetés chez VWR Int. (Fontenay-sous-Bois, France). *Tert*-butyl-méthyl-éther, acétate d'ammonium et acétate d'éthyl proviennent de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, Etats-Unis). L'acide acétique provient de J.T. Baker (Phillipsburg, Etats-Unis) et l'éther éthylique de Cooper (Melun, France). Les standards pour les analyses CLHP de *All-trans-β*-carotène et *all-trans*-lutéine proviennent de Carotenature GmbH (Lupsingen, Suisse) et le lycopène de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Etats-Unis). Phytoène et zéaxanthine proviennent de culture d'*Escherichia coli* contenant les plasmides pAC-PHYT et pAC-ZEAX aimablement fournies par le Dr F.X. Cunningham Jr. (University of Maryland, Etats-Unis). Cyanidine-3-glucoside et quercétine-3-glucoside proviennent de chez Extrasynthese (Genay, France).

Extraction des caroténoïdes :

L'extraction s'est déroulée selon le protocole adapté de celui décrit par Rodriguez-Amaya et Kimura (2000) utilisant l'acétone. Chaque étape s'est déroulée à 4°C et à l'obscurité. Une partie de l'échantillon de poudre (2 à 4 g) a été homogénéisée dans 10 mL d'acétone à l'aide d'un broyeur à couteaux, polytron Biotrona 6403 (Küssnacht, Suisse). Les couteaux ont été rincés avec 5 mL d'acétone, puis rajoutés aux premiers 10 mL d'extraction. Afin de culotter les résidus, les échantillons ont été centrifugés à 4°C et 3000 g pendant 10 min. Le surnageant a été prélevé à la pipette Pasteur et l'extraction a été répétée sur le culot. La mise au point du protocole a été réalisée sur les échantillons les plus concentrés en vérifiant par Chromatographie Liquide Haute Performance équipée d'un Détecteur à Barrette de Diodes (CLHP-DBD). L'optimisation a été

réalisée par le suivi à 460 et 290 nm, respectivement pour les caroténoïdes colorés et non-colorés.

Généralement, deux à quatre extractions successives ont été nécessaires pour assurer une meilleure extraction. Les caroténoïdes produits à l'aide des cultures bactériennes ont été extraits avec de l'éther éthylique. Les extraits ont été évaporés à sec sous flux d'azote puis repris dans un volume adéquat d'acétate d'éthyl pour injection directement consécutive.

Analyse des caroténoïdes :

Les échantillons ont été analysés par CLHP-DBD selon un gradient décrit par Fraser *et al.* (2000) légèrement modifié. Les extraits ont été séparés sur une chaîne Spectra system (Thermo Finnigan) équipée d'une colonne C30 phase inverse YMC Inc. (Europe GmbH, Germany), 5 μ m, 4,6 x 250 mm. La phase mobile était constitué de méthanol comme éluant A, de méthanol/1% acétate d'ammonium dans de l'eau milliQ (5:1, v:v) comme éluant B et de *tert*-butyl-méthyl éther comme éluant C. Le volume injecté était de 50 μ L, le débit fixé à 1 mL.min⁻¹ et la température de la colonne à 25°C. Le programme du gradient était le suivant : conditions initiales de 0-12 min, 95%A/5%B ; de 12-12,1 min, jusqu'à 80%A/5%B/15%C ; de 12,1-40 min, jusqu'à 30%A/5%B/65%C ; de 40-43 min, jusqu'à 5%B/95%C ; de 43-46 min, jusqu'à 5%B/95%C ; de 46-49 min, jusqu'à 95%A/5%B ; et retour aux conditions initiales pour ré-équilibre. Les caroténoïdes ont été suivis entre 200 et 800 nm à l'aide d'un DBD UV-visible UV-6000 (Thermo Finnigan). Les données ont été collectées et analysées en utilisant le logiciel Chromeleon v.6.60 (Dionex Co., Sunnyvale, Etats-Unis). Un standard externe d'astaxanthine a été injecté quotidiennement afin de s'assurer de la répétabilité de la séparation analytique au niveau du temps de rétention et de la surface du pic. Tous les composés ont été élués en 45 min.

Extraction des anthocyanes :

Les anthocyanes ont été extraits selon une méthode décrite par McDougall *et al.* (2007) mais légèrement modifiée. Une quantité de 2 g de poudre lyophilisée a été homogénéisée dans 15 mL de 7% acide acétique/eau milliQ (v/v) à l'aide d'un broyeur à couteaux polytron Biotrona 6403 (Küssnacht, Suisse). Les couteaux ont été rincés avec 5 mL de 7% acide acétique/eau milliQ puis rajoutés aux premiers 15 mL d'extraction. L'extraction se déroule en tube fermé sous agitation, à l'obscurité et à température ambiante pendant la nuit (16h).

L'eau permet de solubiliser une quantité importante d'impuretés et les extraits ont donc du être purifiés. Nous avons réalisé une Extraction sur Phase Solide (EPS) afin d'éliminer les composés non-phénoliques comme des acides organiques, sucres, protéines solubles entre autres. Après purification, les échantillons ont été concentrés sur un système GracePure SPE C18-Max, 500 mg/3 mL (Grace-Alltech, Columbia, Etats-Unis). Chaque étape se déroule à l'abri de la lumière et autant que possible à 4°C. La colonne EPS a été pré-traitée avec 3 mL de 0,1% HCl/méthanol (v/v) et équilibré avec 2 x 3 mL de 7% acide acétique/eau milliQ. Les extraits ont été centrifugés à 4800 g et à 4°C, pendant 10 min et 4 mL de surnageant a été déposé sur la colonne EPS. Les composés phénoliques ont été fixés puis lavés avec 2 x 3 mL de 7% acide acétique/eau milliQ. Afin de garder les anthocyanes sous leur forme flavylium rouge qui leur confère une meilleure stabilité, l'élution a été réalisée avec 1 mL de 0,1%HCl/méthanol, avant injection directement consécutive. Le taux de recouvrement du système EPS a été calculé en testant le protocole à l'aide de standards purs. Il est de 95,2% pour la cyanidine-3-glucoside et de 92,2% pour la quercétine-3-glucoside (injectés en triplicats).

Analyse des anthocyanes :

Le volume injecté était de 20 μL par un injecteur automatique ASI-100 et le gradient effectué par une pompe CLHP P680 (Dionex Co., Sunnyvale, Etats-Unis). La séparation a été réalisée sur une colonne en phase inverse Ultrasphere ODS 250 x 4,6 mm, 5 μm (Beckman Coulter Inc., Fullerton, Etats-Unis). Le solvant A était composé d'acide méthanoïque dans de l'eau milliQ (10/90, v/v), et le solvant B d'acide méthanoïque dans du méthanol (10/90, v/v). La colonne a été maintenue à 25°C et le flux de solvant à 0,6 mL.min⁻¹. Le programme du gradient était le suivant : conditions initiales, 90%A/10%B ; de 0-40 min, jusqu'à 60%A/40%B ; de 40-44 min, jusqu'à 100%B ; de 44-48 min, retour aux conditions initiales pour ré-équilibrage. Les anthocyanes ont été suivies entre 200 et 800 nm à l'aide d'un DBD UV-visible 340U (Dionex Co., Sunnyvale, Etats-Unis). La détection et la quantification des anthocyanes et flavonols a été réalisée respectivement à 520 et 360 nm. Les données ont été collectées et analysées en utilisant le logiciel Chromeleon v.6.60 (Dionex Co., Sunnyvale, Etats-Unis). Tous les composés ont été élués en 65 min.

Pureté des pics et quantification :

La pureté des pics a été vérifiée à l'aide du DBD. Chaque pic a montré les mêmes caractéristiques spectrales au maximum du pic et sur la pente avant et après le maximum. La pureté des standards a été calculée par le ratio entre les surfaces du pic du standard et des pics totaux. Lorsqu'ils étaient disponibles, la quantification a été réalisée avec des standards de qualité CLHP à l'aide d'une calibration externe. Les équations de calibration ont été établies au moyen de cinq concentrations (injectées en triplicats) et les coefficients de réponse sont linéaire ($r \geq 0,98$). Les composés non-identifiés ont été nommés par un I (caroténoïde) ou un A (anthocyane) accompagné du temps de rétention caractéristique : par exemple P24,9 est un caroténoïde ayant un temps de rétention de 24,9 min.

Pour les caroténoïdes, comme conseillé par Rodriguez-Amaya et Kimura (2000) chaque standard de caroténoïde était pur à 90% minimum. A cause de l'absence de standard de *cis*-isomères dans le commerce et de part leurs similaires coefficients d'extinction molaire, le pourcentage de recouvrement de ces composés a été considéré comme équivalent à leur forme *trans* correspondante. Quand les standards n'étaient pas disponibles, les teneurs ont été exprimées en équivalent *all-trans*- β -carotène (E β C) ou équivalent lutéine (EL) en accord avec le spectre d'absorbance des composés. Pour les anthocyanes et flavonols, les teneurs ont été exprimées respectivement en équivalent cyanidine-3-glucoside (ECG) et équivalent quercétine-3-glucoside (EQG). Les teneurs totales en caroténoïdes et anthocyanes exprimées en E β C et ECG sont calculées sur base de la surface totale des pics, respectivement observés à 460 et 520 nm. Pour les caroténoïdes les teneurs en phytoène, déterminé à 280 nm, sont rajoutées.

Détermination visuelle des couleurs :

Un code a été attribué à chaque accession lors de la récolte pour décrire la couleur de la chair, allant de 1 à 7. Il correspond à : 1 (blanc), 2 (jaune), 3 (orange), 4 (rose), 5 (rouge), 6 (violet clair) et 7 (violet foncé). Plusieurs chiffres correspondent à les accessions présentant plusieurs couleurs, par exemple 23 correspond à une chair bicolore jaune et orange.

Analyse statistique des données :

Les coefficients de variation de la moyenne (CV%) ont été calculés afin de présenter une estimation normalisée de la probabilité de dispersion d'une distribution. Les relations entre composés majeurs ou métabolites secondaires et couleurs déterminées visuellement (représenté par leur code) ont été estimées en calculant les coefficients de corrélation de Pearson. Le test *t* de Student a été utilisé pour déterminer la significativité des corrélations.

Résultats et Discussion

Evaluation de l'incidence de la sélection en termes de composés majeurs :

Les résultats de la sélection des hybrides et leur comparaison avec leurs parents, en termes de composés majeurs, sont présentés en tableau 2 pour le taro.

Tableau 2. Variation des composés majeurs pour 66 variétés (var) et 45 hybrides (hyb) de taro (exprimé en % de MS).

Stat	Amidon		Sucres		Protéines		Minéraux		Cellulose	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb
Min	64,60	60,77	0,90	3,23	2,30	2,42	1,47	2,68	1,40	2,16
Max	88,20	87,05	17,30	18,58	9,20	14,79	8,13	5,86	7,30	6,64
Moy	79,34	76,58	4,07	6,58	5,40	5,18	3,93	4,15	3,26	3,51
CV%	6,5	7,8	66,0	40,8	25,4	48,0	30,3	16,6	32,2	29,3

Les RT représentent l'alimentation de base dans les pays du Pacifique et les cultivateurs locaux effectuent une sélection traditionnelle visant principalement les teneurs en amidon. Ceci explique probablement les très faibles CV% relevés pour l'amidon. Pour le taro, la variabilité des autres composés majeurs est importante et confirme de précédents résultats (Champagne *et al.*, 2009). Aucun profil d'amélioration évident n'est révélé chez cette espèce (Tableau 2). Cependant, en comparant les variétés et les hybrides, on observe que les moyennes des teneurs en amidon et en sucres totaux évoluent de manière opposée. Ceci est cohérent avec les corrélations négatives précédemment mises en évidence entre ces composés (Champagne *et al.*, 2009). Les hybrides présentent des teneurs maximum et minimum en sucres plus élevées avec un CV% plus faible. La méthode d'amélioration favorise donc de manière involontaire les accessions plus riches en sucres totaux. La diversité des teneurs en protéines est nettement enrichie chez les hybrides avec un CV de 48% contre 25% chez les parents. Ceci est plus particulièrement dû à une très forte augmentation des maxima (Tableau 2).

La méthode d'amélioration semble réduire considérablement les variations en minéraux en diminuant les minima, maxima et CV%. Régulièrement, les hybrides sélectionnés sont évalués par l'équipe technique du CTRAV afin de correspondre aux préférences organoleptiques locales. Cette association paraît intéressante et indique que les fortes teneurs en minéraux doivent être considérées comme un frein à l'acceptation par le consommateur. Ceci semble confirmer les résultats préliminaires rapportés par Bourrieau (2000) et Lebot *et al.* (2004) qui indiquaient qu'une variété était jugée « bonne » lorsqu'elle présentait une forte teneur en matière sèche et en amidon et de faibles teneurs en minéraux. Il a été montré que des teneurs en amidon moyennes étaient préférées pour la consommation quotidienne (bouillie ou braisée) (Champagne *et al.*, 2009). Comme cette méthode d'amélioration ne montre pas d'incidence marquée sur les teneurs

en amidon, la biofortification des autres composés majeurs semble possible pour la consommation quotidienne.

En ce qui concerne la patate douce, les résultats obtenus pour les composés majeurs sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3. Variation des composés majeurs pour 37 variétés (var) et 146 hybrides (hyb) de patate douce (exprimé en % de MS).

Stat	Amidon		Sucres		Protéines		Minéraux		Cellulose	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	Hyb	var	hyb
Min	56,66	53,30	1,49	2,58	3,57	2,67	2,32	2,06	2,84	2,39
Max	81,13	83,83	20,67	25,29	10,20	9,97	4,75	8,22	6,40	14,02
Moy	71,07	69,25	9,91	10,30	5,99	5,82	3,53	3,48	4,12	4,24
CV%	8,1	8,5	39,0	48,4	24,8	20,5	16,9	25,6	20,8	44,3

La méthode d'amélioration mène indirectement à sélectionner des teneurs plus élevées en sucres (Tableau 3). Cependant, contrairement au taro, les CV% indiquent que la diversité est nettement favorisée par cette méthode. A l'opposé des observations réalisées chez le taro, les teneurs en protéines et minéraux diminuent et augmentent respectivement (Tableau 3). Ces résultats sont particulièrement impressionnants pour les teneurs maximales en minéraux qui ont presque doublé chez les hybrides. Pour la cellulose, les maxima et CV% ont plus que doublés entre les parents et les hybrides.

Evaluation de la sélection en termes de caroténoïdes :

En accord avec les préférences locales, il a été montré que les couleurs de chair, associées à la présence de caroténoïdes, ne devrait pas constituer une contrainte pour l'acceptation des variétés (Champagne *et al.*, 2009). Afin d'évaluer les progrès réalisés au moyen de la méthode d'amélioration employée, les caractéristiques des parents (des variétés) ont été comparées aux hybrides et sont présentées dans les tableaux 4 et 5, respectivement pour le taro et la patate douce.

En ce qui concerne le taro, les teneurs relevées pour presque tous les maxima montrent une augmentation chez les hybrides, exceptés pour la lutéine. Plus particulièrement, une amélioration des teneurs en P25,5 (composé non identifié, supposé être un *cis*-isomère du β -carotène) est montrée passant de 0,17 à 2,04 $\mu\text{gE}\beta\text{C/gMS}$. L'augmentation du maximum en *all-trans*- β -carotène de plus d'un facteur 3,5 est également intéressante. Les moyennes également plus élevées chez les hybrides montrent une amélioration concomitante des teneurs. Par exemple, *all-trans*- β -carotène et zéaxanthine sont respectivement augmentés d'un facteur 7 et 36. A l'inverse, les CV% montrent une diminution notable de la diversité chez les hybrides, probablement en rapport avec la taille moindre de l'effectif. De manière étonnante, le phytoène

Tableau 4. Variation des teneurs en caroténoïdes majeurs de taro parmi 79 var et 34 hyb issus de polycross (mg/gMS).

Stat	lutéine		zéaxanthine		phytoène		l25,5 ^a		13-cis- β -carotène ^a		all-trans- β -carotène		9-cis- β -carotène ^a		Total	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb
Min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,09	n.d.
Max.	1,21	0,82	0,14	1,36	n.d.	0,19	0,17	2,04	2,72	4,77	4,03	15,83	1,79	2,30	9.77	25.58
Moy.	0,16	0,28	0,00	0,13	n.d.	0,01	0,03	0,50	0,37	1,44	0,53	3,53	0,28	0,80	1.47	6.79
CV%	163,3	94,9	612,7	240,9	0	315,6	187,8	139,1	184,2	118,6	179,9	137,5	163,5	106,7	155.4	121.1

^a en équivalent *all-trans- β -carotène*

Tableau 5. Variation des teneurs en caroténoïdes majeurs de patate douce parmi 7 var et 56 hyb issus de polycross (mg/gMS).

Stat	l19,5 ^a		l20,7 ^a		l24,9 ^b		13-cis- β -carotène ^b		all-trans- β -carotène		9-cis- β -carotène ^b		l38,4 ^b		Total	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb
Min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Max.	16,09	19,93	13,07	16,31	73,56	76,02	78,38	93,93	565,86	333,96	37,95	36,87	38,38	37,69	822,21	593,65
Moy.	8,05	4,61	7,23	3,57	32,76	16,37	34,98	20,07	196,04	66,12	18,16	9,88	18,62	7,95	316,36	129,04
CV%	93,9	129,2	79,4	142,0	99,0	145,5	99,8	148,3	119,6	152,3	99,4	148,5	99,5	174,8	108,3	141,2

^a en équivalent *all-trans- β -carotène*, ^b en équivalent lutéine

qui n'avait pu être détecté chez les parents est présent en petite quantité chez quatre hybrides. Le même phénomène est observé pour le lycopène retrouvé dans un hybride. Puisque le phytoène et le lycopène sont des caroténoïdes acycliques situés en amont de la voie de biosynthèse, nous supposons l'apparition d'un dérèglement de la machinerie enzymatique. Néanmoins, chez tous les hybrides qui montrent ce genre de changement (phytoène ou lycopène), on observe également la présence de tous les caroténoïdes généralement rencontrés. Ceci indique probablement une simple amélioration globale des teneurs.

En ce qui concerne la patate douce, la méthode d'amélioration produit des résultats très différents. En observant les maxima chez la patate douce, on remarque que les teneurs pour la majorité des caroténoïdes sont plus faibles chez les hybrides que chez les parents. De manière analogue, on observe une incidence négative sur les moyennes des hybrides, pour tous les caroténoïdes majeurs (Tableau 5). Certains composés très intéressants en termes de nutrition, comme le *all-trans-β*-carotène, ont vu leur moyenne divisée par 3. Par contre, les CV ont tous augmenté chez les hybrides, indiquant une certaine augmentation de la diversité. Il convient de noter que le CV est directement lié à la moyenne et une baisse de celle-ci engendre une hausse du CV correspondant. Il convient donc de considérer le gain de diversité traduit par l'augmentation des CV avec précaution.

Evaluation de la sélection en termes d'anthocyanes :

La même démarche que pour les caroténoïdes a été appliquée, c'est à dire la comparaison des caractéristiques des parents à celles des hybrides.

Chez le taro, d'importantes diminutions sont observées entre les variétés (parents) et les hybrides (Tableau 6). Ceci est remarquable pour les maxima en teneurs totales comme individuelles, excepté pour l'anthocyane A28,5 dont le maximum et le CV% restent relativement inchangés. De plus, la moyenne des teneurs pour ce composé A28,5 est plus élevée chez les hybrides. Néanmoins l'anthocyane majeure (A22,1) et les teneurs totales représentent la tendance globale qui montre des CV% et des moyennes moins importantes chez les hybrides que chez les parents. Il y a donc une perte de diversité et des maxima très fortement diminués. Ces maxima semblent également plus bas que ceux relevés par nos précédents travaux (données non encore publiées, incluses dans l'étude de la variabilité inter-spécifique).

Chez la patate douce, l'incidence de la méthode d'amélioration produit des résultats très différents (Tableau 7). En effet, les maxima des teneurs totales comme individuelles sont globalement plus élevées chez les hybrides, excepté pour les anthocyanes A35,9 et A36,4. La tendance opposée est observée pour les teneurs moyennes, avec des teneurs majoritairement plus basses chez les hybrides. L'anthocyane A17,4 n'a pas été détectée dans les variétés alors que des teneurs maximales de 49,2 µg/gMS sont révélées chez les hybrides. Par contre, les variations au sein de l'échantillonnage sont plus élevées chez les hybrides. Ce type de méthode semble favoriser les fortes teneurs en anthocyanes totales et individuelles.

Notons cependant qu'en observant les spectres d'absorbance des anthocyanes majeures (Hayashi *com. pers.*, 2009), les anthocyanes individuelles qui présentent les plus forts taux d'acylation sont celles élues à partir de A30,8 incluse. Donc parmi les anthocyanes les plus stables au pH et aux UV (Hayashi *et al.*, 1996), une majorité semble être favorisée, incluant même celle qui est proportionnellement la plus concentrée. Plus généralement, les maxima des

Tableau 6. Variation des teneurs en anthocyanes majeures de taro parmi 79 var et 34 hyb issus de polycross.

Stat	A21,0		A22,1		A24,2		A26,6		A28,5		Total	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb
Min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Max.	5,58	1,68	243,26	104,23	12,74	0,28	32,86	6,60	22,13	22,86	306,79	118,87
Moy.	0,12	0,10	10,06	6,88	0,29	0,02	0,72	0,70	1,15	1,41	12,33	9,11
CV%	546,5	328,3	400,1	305,7	571,5	343,6	528,3	221,7	313,1	300,2	386,7	267,7

* en $\mu\text{gC3G/gMS}$

Tableau 7. Variation des teneurs en anthocyanes majeures de patate douce parmi 7 var et 56 hyb issus de polycross.

Stat	A17,4		A21,4		A30,8		A32,7		A34,1		A35,9		A36,4		Total	
	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb	var	hyb
Min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Max.	n.d.	49,24	9,05	66,30	25,36	169,82	73,31	89,61	151,14	419,78	145,07	64,16	81,25	35,78	552,65	881,75
Moy.		1,94	1,29	6,15	7,38	8,06	10,63	5,26	24,43	23,46	20,73	3,89	16,08	3,49	94,14	59,44
CV%		374,8	264,6	251,3	159,5	397,6	260,0	295,6	230,7	342,8	264,5	322,0	192,9	240,5	218,6	287,7

* en $\mu\text{gC3G/gMS}$

Table 8. Variation totale, en fonction de la couleur de la chair, des teneurs en caroténoïdes majeurs et totaux pour 113 accessions de taro.

Couleur Chair	Nb. Acc.	Moyennes en mg/gMS							
		Lutéine	zéaxanthine	phytoène	l25,5 ^a	13-cis- β -carotène ^a	all-trans- β -carotène	9-cis- β -carotène ^a	Total ^a
4	16	0,052	0,009	0,007	0,058	0,147	0,200	0,127	0,650
1	14	0,099	0,030	0,000	0,056	0,159	0,225	0,149	0,768
7	3	0,144	0,044	0,000	0,050	0,165	0,260	0,107	0,819
6	15	0,098	0,000	0,000	0,051	0,184	0,349	0,167	0,899
2	31	0,116	0,014	0,000	0,041	0,242	0,397	0,183	1,042
5	12	0,191	0,088	0,026	0,230	0,386	0,857	0,282	2,109
3	21	0,526	0,128	0,000	0,563	2,529	5,312	1,454	10,561
36	1	0,814	0,000	0,000	1,515	4,767	15,828	2,297	25,271
113 acc	min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,087
	max.	1,214	1,361	0,187	2,043	4,767	15,828	2,297	25,575
	moy.	0,193	0,043	0,004	0,177	0,689	1,437	0,432	3,074
	CV%	136,4	423,5	589,6	247,7	173,0	214,2	148,4	176,9

^a en équivalent *all-trans- β -carotène*

Table 9. Variation totale, en fonction de la couleur de la chair, des teneurs en caroténoïdes majeurs et totaux pour 63 accessions de patate douce.

Couleur Chair	Nb Acc.	Moyennes en mg/gMS									
		I10,6 ^b	I19,5 ^b	I20,7 ^b	I24,9 ^a	13- <i>cis</i> -β- carotène ^a	<i>all-trans</i> -β- carotène	9- <i>cis</i> -β- carotène ^a	I38,4 ^a	Total ^a	
2	3	0,78	1,07	1,45	1,94	1,97	2,13	0,61	0,56	10,50	
27	6	1,58	0,94	2,11	1,97	2,22	3,49	1,82	1,13	15,25	
17	9	0,14	1,15	1,10	3,75	3,86	14,26	2,00	1,94	28,19	
237	8	0,75	4,52	3,45	12,74	14,81	59,78	7,96	7,56	111,56	
37	6	1,14	5,32	4,01	18,98	22,57	77,08	11,85	12,13	153,08	
23	9	0,18	7,96	5,29	20,56	22,37	88,77	11,87	15,47	172,47	
3	12	0,00	12,03	9,47	54,70	68,44	253,09	32,36	21,50	451,59	
63 acc	{	min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		max.	6,83	19,93	16,31	76,02	93,93	565,86	37,95	38,38	822,21
		moy.	0,46	5,00	3,98	18,19	21,73	80,56	10,80	9,14	149,86
		CV%	231,4	123,8	131,5	138,2	140,1	157,1	140,2	160,9	140,5

^a en équivalent *all-trans- β -carotène*, ^b en équivalent lutéine

teneurs totales en anthocyanes que nous avons présentées dans cette étude se situent en dessous de celles présentées précédemment, environ 1600 $\mu\text{g/gMS}$ (Teow *et al.*, 2007) et 6180 $\mu\text{g/gMS}$ (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2003).

Variation intraspécifique en caroténoïdes :

Les tableaux 8 et 9 présentent les variations mesurées en caroténoïdes individuels majeurs et caroténoïdes totaux en fonction de la couleur de la chair.

La moyenne des teneurs totales en caroténoïdes est comme attendue bien plus élevée chez la patate douce (149,86 $\text{mgE}\beta\text{C/gMS}$) que chez le taro (3,07).

Chez le taro, pour ces accessions cultivées dans un environnement standardisé, les variabilités des teneurs en caroténoïdes individuels majeurs et en caroténoïdes totaux sont très importantes (Tableau 8) et semblent donc être contrôlées génétiquement. Nous avons représenté les moyennes pour ces teneurs en les regroupant par classe de couleurs (Tableau 8). Si l'on range les moyennes des teneurs totales en caroténoïdes par ordre croissant, on remarque de manière intéressante que quasiment tous les caroténoïdes individuels majeurs varient dans le même sens. Cependant, les teneurs en zéaxanthine et en phytoène varient différemment. Par exemple, les accessions à chair violet clair et celle à chair bicolore violet clair/orange ne contiennent jamais ni l'un ni l'autre, de ces composés. Néanmoins, c'est une accession à chair orange qui affiche le maximum des caroténoïdes totaux et l'accession à chair violet clair/orange se place juste derrière. Notons que les plus importantes teneurs en phytoène (caroténoïde non coloré se situant en amont dans la voie de biosynthèse) ont été uniquement mises en évidence chez des taros à chair violet clair, et qu'il n'est détecté que chez quatre accessions sur 113 analysées. De manière tout à fait inattendue, une accession présente des teneurs en lycopène de 0,024 mg/gMS .

Chez la patate douce, l'accession la plus riche en caroténoïdes totaux est une accession à chair orange. La composition en caroténoïdes individuels varie peu pour les accessions orange. C'est en effet toujours le *all-trans- β -carotène* qui représente la majorité des caroténoïdes totaux. Cependant, ce composé représente entre 70 et 85% des caroténoïdes totaux, alors qu'il a été montré précédemment que chez ce type d'accessions il représente généralement plus de 80% (Takahata *et al.*, 1993 ; données non publiées). Ce sont donc les teneurs moyennes de ce composé qui sont les plus élevées (Tableau 9), suivi de son *cis*-isomère en 13 puis d'un composé non identifié (I24,9). Ce composé présente un spectre d'absorbance qui ressemble à celui du *all-trans- β -carotène* est serait vraisemblablement un de ces *cis*-isomères (Liu *et al.*, 2009). Tous les caroténoïdes majeurs présentent une variabilité importante des teneurs, illustrée par des CV% élevés. Ceci indique donc que ces teneurs sont contrôlées génétiquement.

En rangeant les classes de couleurs par ordre croissant des teneurs totales moyennes en caroténoïdes, on remarque comme chez le taro, une augmentation des teneurs en presque tous les caroténoïdes individuels majeurs. Seul le composé non-identifié I10,6 (supposé être un xanthophylle sur base de ses caractéristiques spectrales) semble présenter un profil de variation très différent. Ce composé est même absent de toutes les accessions à chair orange. Néanmoins, on constate pour les moyennes que les plus hautes correspondent aux chairs orange et les plus basses, aux chairs jaune. De manière surprenante, les accessions bicolores à chair blanc/violet comparées à celles à chair jaune/violet affichent des teneurs plus élevées pour la majorité des caroténoïdes. Il semblerait donc que la partie violette associée au blanc contienne beaucoup plus de caroténoïdes qu'associée au jaune et que donc une partie des caroténoïdes est dissimulée par une couleur de chair violet.

Table 10. Variation totale, en fonction de la couleur de la chair, des teneurs en anthocyanes majeures et totales pour 113 accessions de taro.

Couleur Chair	Nb. Acc.	Moyennes en $\mu\text{g/gMS}$					Total
		A21,0	A22,1	A24,2	A26,6	A28,5	
2	31	0,06	0,45	0,08	0,10	0,18	0,86
3	21	0,03	1,24	0,01	0,13	0,09	1,49
1	14	0,00	1,45	0,00	0,04	0,15	1,64
4	16	0,03	2,58	0,01	0,20	0,53	3,35
36	1	0,00	4,08	0,00	2,16	0,37	6,61
5	12	0,22	17,76	0,98	1,61	3,98	24,55
6	3	0,48	20,41	0,51	2,62	1,97	25,98
7	15	0,00	129,45	0,03	2,95	13,38	145,81
113 acc	min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	max.	5,58	243,26	12,74	32,86	22,86	306,79
	moy.	0,11	9,10	0,21	0,71	1,23	11,36
	CV%	505,4	390,0	668,2	459,1	308,1	369,4

* en équivalent cyanidine-3-glucose.

Table 11. Variation totale, en fonction de la couleur de la chair, des teneurs en anthocyanes majeures et totales pour 63 accessions de patate douce.

Couleur Chair	Nb Acc.	Moyennes en $\mu\text{g/gMS}^*$							Total
		A17,4	A21,4	A30,8	A32,7	A34,1	A35,9	A36,4	
2	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	12	n.d.	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,37
237	8	0,07	0,23	1,95	0,44	0,75	0,25	0,30	4,37
17	19	n.d.	n.d.	3,99	2,24	4,42	1,83	5,39	25,62
23	9	1,05	8,84	4,57	10,85	33,12	18,83	13,81	102,92
37	6	2,99	18,67	30,21	7,43	84,93	11,78	9,43	182,28
27	6	12,97	25,28	33,99	32,25	100,04	16,31	11,56	266,91
63 acc	min.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	max.	49,24	66,30	169,82	89,61	419,78	145,07	81,25	881,75
	moy.	1,69	5,54	7,89	5,77	23,19	5,70	4,83	62,46
	CV%	402,5	263,0	381,7	293,9	332,6	374,9	270,4	276,1

* en équivalent cyanidine-3-glucose.

Variation intraspécifique en anthocyanes :

Pour le taro, les résultats présentés (Tableau 10) montrent des variations considérables illustrées par des coefficients de variation très élevés, nettement plus que pour les teneurs en caroténoïdes. Ici aussi, les teneurs semblent être liées à un contrôle génétique. En ce qui concerne les maxima observés, l'anthocyane majeur est de très loin A22,1 qui correspond avec notre gradient acétonitrile à A18,8 (données non encore publiées). En comparant notre maximum en anthocyanes totales (243,3 $\mu\text{g/gMS}$) avec celui que nous avons précédemment (265,6) révélé, nous observons que les valeurs sont tout à fait similaires bien que cet échantillonnage soit plus large (33 accessions contre 113). En classant les accessions par couleur de chair, on observe que ce sont les accessions jaunes les moins concentrées en anthocyanes totales, alors que de manière attendue ce sont les accessions violet foncé qui présentent les plus fortes valeurs. Néanmoins, on remarque qu'en moyenne, les accessions orange possèdent plus d'anthocyanes que les jaunes. Si on regarde un corne de taro à chair violet clair (Figure 1 A) par exemple, on constate qu'il existe un gradient de couleur. La partie la plus ancienne, la partie distale, est la moins colorée (la plus claire). Ce gradient de couleur n'est pas observé chez les génotypes à chair jaune, alors qu'il l'est pour les génotypes orange allant de l'orange (proximal) au jaune (distal). En accord avec ces observations, il semble que la couleur orange chez le taro, en plus d'être liée à des teneurs élevées en caroténoïdes, est à mettre en relation avec des teneurs légèrement plus élevées en anthocyanes.

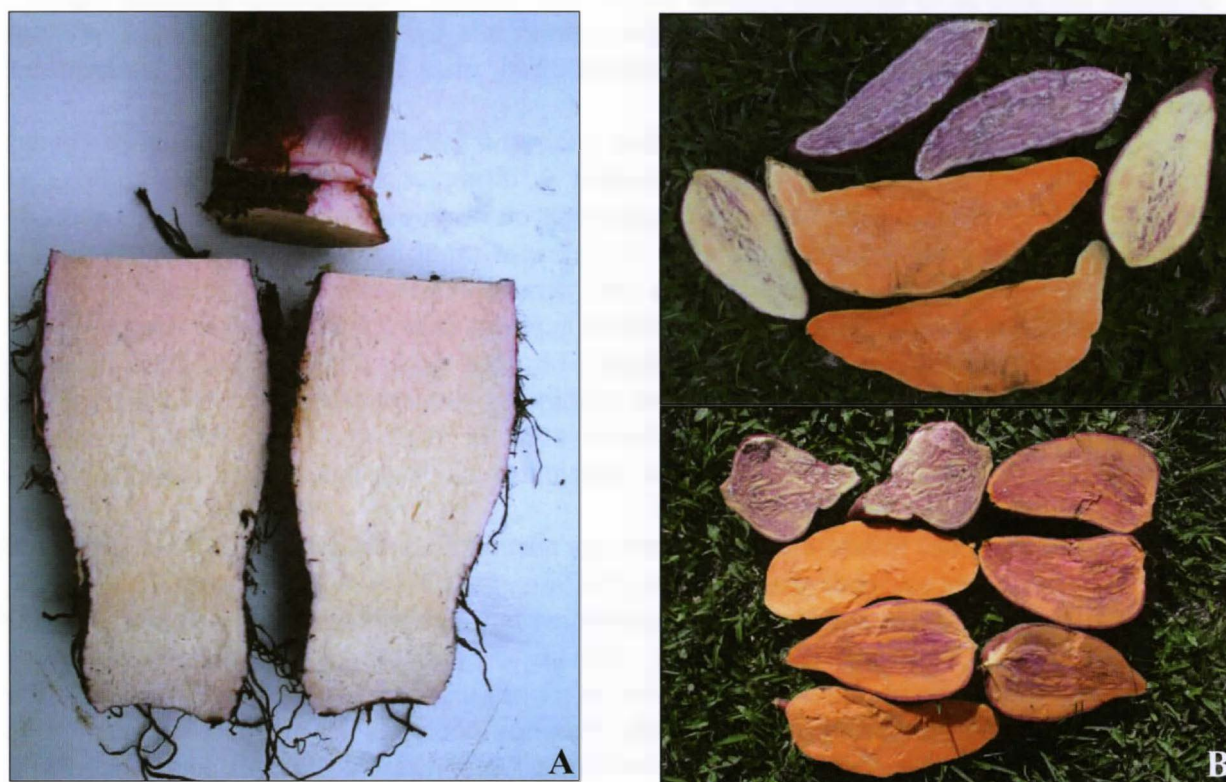


Figure 1 : Gradient de couleur dans un corne de taro (A). Hybrides de patate douce (B)

Chez la patate douce, un fort contrôle génétique est également mis en évidence *via* des variations importantes (Tableau 11). Comme précédemment montré, les teneurs et proportions en anthocyanes individuelles varient fortement d'un génotype à l'autre et les profils de variation types commun à toutes les anthocyanes majeures sont difficiles à discerner. On observe néanmoins une augmentation globale des anthocyanes individuelles en même temps que les teneurs totales en anthocyanes. En termes d'anthocyanes totales, il

semble que la couleur orange de la chair soit associée à des concentrations inférieures en comparaison avec la couleur jaune, quand elles sont présentes en même temps que le violet. Ceci est illustré dans le tableau 7 par les variations des moyennes en anthocyanes totales entre géotypes à chair jaune (2) et orange (3), mais aussi entre jaune-orange-violet (237) et orange-violet (37). Par opposition, les moyennes sont plus faibles chez les accessions à chair orange-violet (37) que jaune-violet (27). En ce qui concerne les maxima, ils semblent élevés en comparaison avec notre précédente étude (données non encore publiées). Par exemple pour les teneurs totales en anthocyanes, notre géotype le plus concentré affichait 409,5 µg/gMS contre 881,8 dans cette étude.

Chimiotypes favorisés par la méthode d'amélioration génétique :

Les variations en composés majeurs ont déjà été étudiées sur un échantillonnage plus large (Champagne *et al.*, 2009) et n'ont donc pas été présentées dans ce travail. Par contre, au Vanouatou les teneurs en caroténoïdes de patate douce et de taro n'ont jamais été étudiées pour un échantillonnage si important. Au vu de la diversité observée, nous pensons qu'il existe des opportunités pour la biofortification, chez le taro comme chez la patate douce.

Nous avons montré qu'une méthode d'amélioration unique, appliqué à deux espèces de familles botaniques différentes, conduit à des résultats d'amélioration différents. La sélection que nous avons appliquée pour la qualité s'est faite en deuxième et en troisième générations clonales. En plus de la sélection pour la forme, elle visait à favoriser pour les deux espèces, les hybrides dont les chairs sont colorées par rapport aux hybrides chairs blanches qui sont généralement éliminés. Cette sélection éliminait aussi, chez les deux espèces, les hybrides pauvres en matière sèche.

Pour le taro, la méthode d'amélioration a favorisé indubitablement les teneurs élevées en sucres et en caroténoïdes, tout en tendant à diminuer les teneurs en minéraux et anthocyanes. En plus de cette tendance à augmenter ou diminuer les teneurs, l'observation de CV% plus faibles pour ces composés chez les hybrides montre que la forte sélection semble réduire la diversité chez ces composés. La plus simple explication pour une telle évolution résiderait dans le fait que les maxima potentiels auraient déjà été atteints, par exemple pour les teneurs en anthocyanes du taro. Cependant, on peut aussi observer que cette méthode d'amélioration induit une focalisation sur les teneurs les plus extrêmes. Ceci mettrait donc en évidence les tendances observées en relation avec la méthode d'amélioration, tout en montrant que les potentiels d'amélioration maximum ne sont pas encore atteints et que l'amélioration génétique est encore possible.

Au Vanouatou, le taro est une "plante des ancêtres", diploïde, dont la base génétique entre variétés locales est relativement étroite (Caillon *et al.*, 2006 ; Quero-García *et al.*, 2004, 2006). De plus, parmi les parents utilisés, seulement huit variétés sont d'origine asiatique sur les 79 ayant servi à produire ces hybrides. Puisque cette plante est traditionnellement très importante, il est probable qu'en accord avec les exigences locales, la pression de sélection soit inconsciemment forte pour ces composés. Ainsi les idéotypes liés aux préférences locales sont probablement mis en exergue par cette méthode. On constate d'ailleurs que les teneurs en amidon, principal attrait de cet aliment de base, sont relativement constantes et qu'elles devront évidemment le rester à l'avenir.

En ce qui concerne la patate douce, on observe comme chez le taro, une tendance à la focalisation sur des teneurs élevées en sucres, caractérisée par une augmentation des maxima et une diminution des CV%. Par contre, l'évolution des teneurs pour les autres composés est moins claire. Chez les hybrides, on observe des maxima plus élevées pour les teneurs en minéraux, cellulose et anthocyanes, mais plus bas pour les teneurs en caroténoïdes. Ces maxima sont accompagnés de CV% plus élevés, indiquant un certain gain de diversité. Notons que la patate douce est une espèce hexaploïde auto-incompatible. De plus, les

hybrides ont été produits entre des génotypes venant de lignées d'amélioration du CIP (Bogor, Indonésie) et des génotypes locaux vanouatais. La méthode d'amélioration appliquée à cette espèce tend donc visiblement à créer plus de diversité chimiotypique.

Afin de tenter de comprendre les différences observées au niveau de nos résultats, on peut considérer cette méthode d'amélioration génétique comme un phénotypage séquentiel. Il est alors possible de le décomposer en étapes successives, surtout liées à différentes évaluations visuelles du sélectionneur.

La première étape élimine les génotypes peu vigoureux ainsi que ceux non résistants aux maladies (en génération séminale et 1^{ère} génération clonale). Pour cette première étape au Vanouatou, la patate douce fréquemment en contact avec la galle (*E. batatas*) subit une plus forte pression de sélection que le taro qui n'est pas en présence de son pathogène le plus ravageur, le *Phytophthora colocasiae*. La deuxième sélection est réalisée sur le rendement (en 1^{ère} génération clonale) mais aussi, et surtout, sur la forme. En troisième vient la sélection pour les couleurs, et donc une évaluation visuelle de la présence de pigments de type caroténoïdes et anthocyanes. Cette fois encore, une forte pression est exercée sur les génotypes de patate douce puisque uniquement les chairs les plus colorées vont être conservées. Evidemment chez le taro qui présente des couleurs moins intenses, une pression moindre peut être appliquée et donc une diversité plus grande serait conservée. La quatrième sélection réalisée sur la forme, le rendement et la densité de l'organe de réserve se fait sur un nombre de génotypes beaucoup plus faible et les pressions de sélection diminuent (Lebot *et al.*, 2005). Il est même probable qu'elles soient équivalentes. Enfin, une dernière étape implique le goût et l'odorat, mais aussi le touché (pour la perception de la texture). Cette étape correspond à une sélection sur les caractères organoleptiques. Evidemment, pour le taro qui a été introduit il y a plus de 3000 ans, les idéotypes locaux sont bien plus développés et exigeants que pour la patate douce plus récemment introduite et dont les préparations culinaires sont bien moins exigeantes (Champagne *et al.*, 2009).

Nous avons tenté d'établir des relations entre les teneurs en métabolites secondaires (caroténoïdes et anthocyanes) et les couleurs attribuées visuellement mais aucune corrélation significative n'a pu être relevée. Il apparaît que les écarts-types à la moyenne sont importants au sein d'un groupe d'accessions d'une couleur et cela montre qu'une définition visuelle précise de la couleur reste délicate. Par souci de temps d'exposition à l'air, nous avons épluché et râpé les cormes et racines à l'obscurité et le plus rapidement possible. Les codes de couleur ont donc été attribués au fur et à mesure des récoltes de plants. Il aurait certainement été plus fiable d'attribuer les codes couleurs en comparant toutes les accessions en même temps, par exemple en faisant rapidement des tranches sur d'autres organes du même génotype. Ceci est appuyé par les travaux de Marti (2003) pour les colorations de patate douce à chair violet. Il faudrait cinq racines par génotype avec trois observations répétées par racine afin de permettre de différencier avec certitude un écart de couleur. De manière plus générale, plus les écarts entre deux couleurs sont faibles et plus il est difficile de les différencier. Ce sont probablement les limitations visuelles qui fragilisent la mise en évidence de corrélations. Ainsi, des méthodes de mesures de couleurs objectives par chromamètre pourraient être utiles. De plus, nous avons montré qu'il existe un gradient de couleurs par exemple au sein des cormes de taro violet (Figure 1A). Afin de préciser la partie où prendre une mesure représentative de l'organe de réserve dans sa totalité, il serait utile de caractériser les variations de couleurs entre parties proximale et distale.

Afin d'assister les améliorateurs dans ces étapes cruciales de chimiotypage, des outils précis, fiables et pratiques seraient donc nécessaires. Nous avons commencé la mise au point d'une méthode utilisant la spectrométrie proche de l'infra-rouge pour les composés majeurs et il serait intéressant d'étudier le potentiel de cette technologie appliquée à l'amélioration en métabolites secondaires. Puisque d'importantes différences sont observées en termes de

biofortification, il serait aussi très intéressant d'évaluer cette méthode d'amélioration, également utilisé pour le manioc (*M. esculenta*), l'igname de Guinée (*D. cayenensis-rotundata*) et la grande igname (*D. alata*). Dans l'optique d'améliorer les résultats, les futurs programmes de sélection devrait pouvoir prendre en considération ces données pour définir des objectifs mieux appropriés ou plus ciblés en termes de biofortification.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le Fond Français pour l'Environnement Mondial (FFEM) pour le financement du projet intitulé "Préservation et utilisation de l'agrobiodiversité des plantes à racines et tubercules au Vanouatou". L'équipe "racines et tubercules" du VARTC est également remerciée pour son aimable collaboration.

Références

- Bell D. R. & Gochenaur K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin rich extracts. *Journal of Applied Physiology* 100, 1164-1170.
- Bourrieau M. (2000). Valorisation des racines et tubercules tropicaux pour l'alimentation humaine en Océanie: le cas du laplap au Vanuatu. ENSIA- SIARC Thèse de Master en Sciences, Génie agro-alimentaire méditerranéen et tropical, 60 pages + annexes, Mars 2000.
- Caillon S., Quero-García J., Lescure J. P. & Lebot V. (2006). Nature of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic diversity prevalent in a Pacific Ocean island, Vanua Lava, Vanuatu. *Genetic Resources of Crop Evolution* 53, 1273-1289.
- Cevallos-Casals B. A. & Cisneros-Zevallos L. (2003). Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 3313-3319.
- Champagne A., Legendre L. & Lebot V. (2009). Chemotype profiling to guide breeders and explore traditional selection of tropical root crops in Vanuatu, South Pacific. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10363-10370.
- FAO (2009). L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde : Crises économiques - répercussions et enseignements. FAO 2009. *Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture*. 66 pp. Rome, Italia.
- Fraser P. D., Pinto M. E. S., Holloway D. E. & Bramley P. M. (2000). Application of HPLC with photodiode array detection to the metabolic profiling of plant carotenoids. *The Plant Journal* 24, 551-558.
- Hayashi K., Ohara N. & Tsuku A. (1996). Stability of anthocyanins in various vegetables and fruits. *Food Science and Technology International* 2, 30-33.
- Ivancic A. & Lebot V. (2000). The genetics and breeding of taro. CIRAD 2000. Repères (Eds.). 194 pp. Montpellier, France.
- Lau F. C., Shukitt-Hale B. & Joseph J. A. (2006). Beneficial effects of berry fruit polyphenols on neuronal and behavioral aging. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2251-2255.
- Lebot V., Ivancic A. & Abraham K. (2005). The geographical distribution of allelic diversity, a practical means of preserving and using minor root crop genetic resources. *Experimental Agriculture* 41, 475-489.
- Lebot V., Prana M. S., Kreike N., van Heck H., Pardales J., Okpul T., Gendua T., Thongjiem M., Hue H., Viet N. & Yap T. C. (2004). Characterisation of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic resources in Southeast Asia and Oceania. *Genetic Resources of Crop Evolution* 51, 381-392.

- Liu S. C., Lin J. T. & Yang D. J. (2009). Determination of cis- and trans- α - and β -carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times. *Food Chemistry* 116, 605-610.
- Mares J. A., LaRowe T. L., Snodderly D. M., Moeller S. M., Gruber M. J., Klein M. L., Wooten B. R., Johnson E. J. & Chappell R. J. (2006). Predictors of optical density of lutein and zeaxanthin in retinas of older women in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, an ancillary study of the Women's Health Initiative. *American Journal of Clinical Nutrition* 84, 1107-22.
- Martí H. R. (2003). Estimation of sample size in skin and flesh color measurements of dry flesh sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Scientia Horticulturae* 98, 331-336.
- McDougall G. J., Fyffe S., Dobson P. & Stewart D. (2007). Anthocyanins from red cabbage - stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry* 68, 1285-1294.
- Quero-García J., Courtois B., Ivancic A., Letourmy P., Risterucci A. M., Noyer J.-L., Feldmann Ph. & Lebot V. (2006). First genetic maps and QTL studies of yield traits of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Euphytica* 151, 187-199.
- Quero-García J., Noyer J. L., Perrier X., Marchand J. L. & Lebot V. (2004). A germplasm stratification of taro (*Colocasia esculenta*) based on agro-morphological descriptors, validation by AFLP markers. *Euphytica* 137, 387-395.
- Rodriguez-Amaya D. B., & Kimura M. (2000). Harvestplus handbook for carotenoid analysis. Harvestplus technical monograph 2, Washington, DC and Cali: *International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Centre for tropical Agriculture (CIAT)*.
- Takahata Y., Noda T. & Nagata T. (1993). HPLC determination of β -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japanese Journal of Breeding* 43, 421-427.
- Stahl W. & Sies H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1740, 101-107.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., & Yencho, G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry* 103, 829-838.
- Yang C. S., Landau J. M., Huang M. T. & Newmark H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition* 21, 381-406.

SIXIEME CHAPITRE : DISCUSSION GENERALE

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES



Cultivateur transportant une racine de manioc

Nous avons montré que certains génotypes vanouatais de patate douce possèdent un plus grand nombre d'anthocyanes individuelles que les variétés commerciales utilisées comme source de colorant alimentaire au Japon. Leur potentiel est donc intéressant puisque la composition des mélanges d'anthocyanes détermine leur stabilité. Nous avons aussi montré qu'elles étaient majoritairement acylées, ce qui renforce d'autant plus leur stabilité.

Nous avons trouvé des résultats similaires pour la grande igname (*D. alata*), elle aussi utilisée dans l'industrie agro-alimentaire. Ses pigments sont aussi relativement stables et nos génotypes en possèdent de grandes quantités.

Les anthocyanes mises en évidence dans les tubercules et bulbilles de *D. bulbifera* sont également abondantes et semblent assez bien acylées en comparaison avec les deux espèces, patate douce et grande igname, déjà utilisées comme source de colorants.

Chez *C. esculenta*, *X. saggitifolium* et *D. esculenta* les anthocyanes sont moins nombreuses et sont moins acylées. Pour les autres espèces (*A. macrorrhiza*, *D. pentaphylla*, *D. cayenensis-rotundata* et *M. esculenta*), aucune anthocyane n'a été mise en évidence.

La méthode que nous avons mis au point permet d'explorer également les teneurs et compositions en flavonols. *Colocasia esculenta* s'est révélé être une source impressionnante, tant en termes de diversité de composés qu'en termes de teneurs.

L'échantillonnage étudié représente le plus vaste criblage de collections représentatives réalisé pour ces composés chez les RT. Pour plusieurs espèces de RT, notre travail représente une toute première exploration et caractérisation en termes de composés phénoliques : anthocyanes, flavonols, flavanols et acides phénoliques.

C'est chez la grande igname (*D. alata*) que nous avons trouvé les plus fortes teneurs en anthocyanes totales, représentant en poids jusqu'à 0,1% de la matière sèche. Ceci est également valable en termes d'anthocyanes individuelles. Un pigment attire plus particulièrement l'attention (A25.94) puisqu'il compte pour plus de 50% de la surface totale des pics chez tous les cultivars analysés.

Les compositions en anthocyanes les plus variables sont observées chez la patate douce qui présente jusqu'à 12 anthocyanes majeures parmi les 16 identifiées.

En ce qui concerne les flavonols, le taro montre des valeurs très élevées tant en teneurs qu'en nombre de composés, atteignant 20 composés.

Les RT représentent donc une source bon marché d'anthocyanes, autres flavonoïdes et acides phénoliques d'origine naturelle.

2. Evolution, domestication et sélection traditionnelle des chimiotypes

2.1 L'évolution naturelle des chimiotypes

D'un point de vue agronomique, la sélection des génotypes domestiqués ou issus de croisements est, dans une certaine mesure, assez proche de la sélection naturelle qui s'effectue sous l'influence des pressions environnementales. Les différences majeures se situent au niveau de l'origine et du type de pressions exercées par les sélections qui favorisent des caractères particuliers et importants pour les idéotypes. Les sélectionneurs et les agriculteurs dirigent la sélection afin d'obtenir des génotypes à même de répondre le mieux possible aux besoins humains.

L'évolution naturelle tend vers une préservation des génotypes les mieux adaptés à la survie ou à la reproduction dans un environnement donné, quelle que soit la raison pour laquelle ils possèdent une telle aptitude. Les évolutions engendrées par la sélection naturelle et celle réalisée par l'homme ont tendance à favoriser des chimiotypes différents, tout en impliquant des mécanismes similaires.

Pour que l'évolution soit possible, il faut observer des variations intra-spécifiques des caractères biologiques, que ces variations individuelles soient héritables, et qu'elles soient corrélées à la probabilité de survie des individus. Afin d'illustrer les divergences favorisées par ces différentes sélections chez les RT, il convient de s'intéresser aux génotypes sauvages et aux espèces apparentées aux variétés cultivées. Le manioc a été particulièrement bien étudié et peut donc servir d'exemple. Les espèces appartenant au genre *Manihot* sont relativement nombreuses et sont généralement des espèces pérennes à port variable, qui peuvent être herbacées ou former de petits arbres. Ces espèces présentent en majorité de fortes teneurs en composés cyanogéniques (Nassar, 2007a).

Ces composés cyanogéniques sont des métabolites secondaires et actuellement ont été recensés plus de 200 000 métabolites secondaires. Beaucoup de ces métabolites sont impliqués dans les relations entre la plante et son environnement et c'est le cas des composés cyanogéniques mais aussi des composés phénoliques. De manière particulièrement remarquable, les métabolites secondaires jouent un rôle privilégié dans les mécanismes de défense contre les herbivores et les pathogènes microbiens. C'est à ce niveau que se déroule une "course" à l'évolution entre les organismes concernés. En comparaison avec la synthèse des composés majeurs hautement conservée chez les plantes, il est couramment admis que la diversité observée pour les métabolites secondaires est en relation directe avec cette compétition pour la survie. Ce processus dynamique expliquerait la diversité fonctionnelle relevée chez ces composés et mettrait en évidence des adaptations évolutives diverses. (Hartmann *et al.*, 2005)

Parmi les moyens de défense de la plante, certains peuvent correspondre à des caractéristiques physico-chimiques constitutives ou alors être induits : de manière spécifique en lien direct avec la reconnaissance du pathogène lui même (réaction "gène à gène") ou à la reconnaissance d'un éliciteur (composant du pathogène). Parmi les mécanismes constitutifs de défense contre les herbivores (moyens passifs), les plus évidents paraissent être les facteurs anti-nutritionnels (Benhamou, 2009). Par exemple, le goût amer présenté par certains génotypes de manioc serait positivement corrélé à des teneurs élevées en composés cyanogéniques (Chiwona-Karlton *et al.*, 2004). Ces composés sont présents de manière constitutive dans de nombreux génotypes de manioc, les maniocs dits amers, auxquels on oppose les maniocs doux à faibles teneurs. Rencontrés dans de très nombreuses espèces, ils ont favorisé la survie des génotypes qui les synthétisaient *via* une sélection naturelle contre les herbivores. Ils sont souvent associés à des désagréments comme l'amertume mais aussi provoquent des problèmes de santé, auxquels l'amertume est, de fait, associée. Cette toxicité est dépendante des quantités consommées. La rupture des vacuoles conduit à la déglycosylation des glucosides cyanogéniques et le poison libéré n'est autre que de l'acide cyanhydrique (HCN). L'amertume est donc liée à une certaine communication entre la plante et son agresseur, un "avertissement" de leur présence dissuadant les herbivores de les consommer, certainement entretenu de manière évolutive. Cependant, les animaux possèdent des systèmes de détoxification de ces composés et, par exemple, les larves de papillons tel que *Spodoptera eridania* montrent même une meilleure croissance quand elles consomment des plantes contenant des glucosides cyanogéniques (Brattsten *et al.*, 1983). De plus, la production de ce type de composés et plus généralement des métabolites secondaires, doit se faire au détriment de la production d'autres métabolites. Ce « coût métabolique » est certainement contrebalancé au niveau évolutif par une meilleure survie des individus les produisant, en fournissant une certaine protection contre les herbivores. La sélection humaine a d'ailleurs parfois mené à réduire les teneurs en composés cyanogéniques du manioc, mais il s'avère que ces composés permettent une bonne conservation des racines et les lignées à faible teneur se conservent donc très mal en milieu tropical (Nassar, 2007a).

La gêne occasionnée est une caractéristique provoquée par un grand nombre de métabolites secondaires et d'autres molécules, présentes en quantités non négligeables engendrant ce genre de phénomène. L'IAG (isopropyl- β -D-apiofuranosyl- β -D-glucopyranoside), participe également à l'amertume du manioc (King and Bradbury, 1996). Notons également que les alcaloïdes présents chez les RT mais aussi chez la pomme de terre (solanine), ou encore les lactones de la chicorée (*Cichorium* sp.), présentent ce genre de caractéristiques. De nombreux composés phénoliques ont également été associés à ce type de caractéristiques liées à l'amertume. Ils sont présents chez toutes les plantes supérieures et nous avons confirmé que les organes de réserve amylacés des RT en contenaient des quantités variables selon les génotypes. La défense contre les herbivores peut être considérée comme une fonction évolutive des plus évidentes, puisque facilement mise en évidence (Benhamou, 2009). Les métabolites secondaires impliqués dans les mécanismes de défense peuvent être synthétisés de manière constitutive, comme nous venons de le voir, ou en réponse à un stress.

Les composés phénoliques, que nous avons étudié au cours de notre travail, présentent ces caractéristiques et la résistance aux pathogènes serait ainsi liée à la rapidité de leur synthèse *de novo*. Ainsi chez le manioc, la production de flavanols, essentiellement des catéchines issues de la dégradation des pro-anthocyanidines (également appelés tanins condensés), est observée en réponse à une blessure (Rickard, 1985 ; Tanaka *et al.*, 1983). Mais nous n'avons pas pu en détecter dans nos échantillons. Ceci indiquerait au moins que les génotypes vanouatais n'en accumulent pas sous la forme monomérique flavanol et que la préparation des échantillons a été assez rapide pour en empêcher la production. La rapide évolution favorisée par la sélection humaine, des génotypes de manioc au Vanouatou, un milieu peu hostile, pourrait aussi expliquer leur absence dans nos échantillons. La présence de ces tanins condensés est souvent relevée chez les arbres et arbustes alors que ce sont des flavonols que l'on trouve plus fréquemment chez les plantes herbacées (Brown, 1980), respectivement comme le manioc et le taro. Des activités antifongique, antibactérienne et même antivirale ont été mises en évidence (Harborne and Williams, 2000) et ces propriétés biocides, montrées par de nombreux composés phénoliques, constituent également un rôle très important dans les mécanismes de défense pour la survie des génotypes. Notons que la résistance aux champignons ou nématodes est généralement considérée comme un mécanisme de réponse induite et qu'il est difficile de différencier cette réponse d'une défense constitutive et passive.

Les métabolites secondaires, par définition, n'assurent pas la survie stricte de l'organisme, donc ne sont pas des produits directs de la photosynthèse chez les plantes supérieures. Cependant, ils sont associés à de nombreuses fonctions vitales des plantes, à l'image des fonctions évolutives présentées ci-dessus. Certains de ces métabolites secondaires sont des pigments, comme des flavonoïdes et caroténoïdes. Pour les organes aériens leurs fonctions évolutives principales sont l'attraction de pollinisateurs dans les fleurs ou de disperseurs de graines dans les fruits, la dispersion de l'énergie lumineuse excédentaire ou l'absorption d'une partie de cette énergie par exemple dans les feuillages. Pour les organes souterrains, les fonctions évolutives sont donc à première vue moins évidentes, puisque moins visibles. Cependant comme les autres composés phénoliques, un rôle de défense a été attribué aux anthocyanes (Lev-Yadun and Gould, 2009). Un rôle passif en tant que camouflage ou de dissuasion par "avertissement" que cette couleur doit être associée à une certaine toxicité, mais aussi par la toxicité des composés eux mêmes. Comme nous l'avons vu, ces composés sont également impliqués dans des mécanismes de réponse à des attaques de pathogènes ou de ravageurs. A titre d'exemple, la figure 14 montre la production d'anthocyanes dans un corme de taro à chair jaune attaqué par un petit coléoptère (*Papuana* sp.). On observe vraisemblablement en rose des anthocyanes et en marron l'accumulation

d'autres composés phénoliques. Ce phénomène est davantage connu chez les ignames dont la chair de nombreuses espèces brunit au contact de l'air ou chez le manioc au cours de la détérioration post-récolte. Ce sont des réactions d'oxydation qui impliquent des enzymes telles que des polyphénol oxydases et des peroxydases.



Figure 14 : Anthocyanes produites en réponse à l'attaque d'un corme de taro par un scarabée.

2.2 L'adéquation entre chimiotypes et usages

Si l'évolution naturelle favorise les chimiotypes présentant une certaine résistance aux pathogènes et ravageurs, elle a également favorisé les herbivores montrant une certaine tolérance envers ce type de composés. D'une part en favorisant les sensibilités réduites pour cette toxicité et d'autre part les processus de détoxification permettant une tolérance accrue. L'homme est un herbivore ou plus précisément un végétarien. En effet, l'homme en tant que chasseur-cueilleur avait un régime principalement végétarien et c'est avec l'utilisation de la transformation des aliments et surtout la cuisson qu'une révolution alimentaire a eu lieu. Ce facteur aurait permis, grâce à une mastication plus facile et une digestion plus efficace, de passer d'une alimentation plutôt végétarienne à une alimentation plus carnée (Coppens et Picq, 2001).

Chez les plantes à racines et tubercules, une importante stratégie de défense au sens large, ou plutôt de survie, est la production d'un organe de réserve. Nous avons expliqué précédemment que les composés anti-nutritionnels sont généralement sensibles aux transformations culinaires comme la cuisson. Il est donc possible que ce soit les procédés de transformation qui aient élargi le panel d'espèces ou de génotypes consommés (Coppens et Picq, 2001). Nous ne discuterons pas ici des systèmes physiologiques de détoxification chez l'homme mais plutôt des procédés de transformation développés pour réduire la toxicité.

Nous avons tenté de présenter au cours de notre travail une illustration de la diversité des modes de transformation et de cuisson. Cette présentation ne peut être exhaustive tant la diversité est importante selon la région du monde (Afrique, Amérique du Sud, Asie ou Océanie). Néanmoins en ce qui concerne les modes de transformation, il existe des caractéristiques communes parmi ces espèces. Certaines de ces caractéristiques ont déjà fait l'objet d'une synthèse chez le manioc. Certains de ces modes ont été vraisemblablement élaborés pour l'élimination de métabolites secondaires indésirables, comme la cuisson et la fermentation, alors que d'autres seraient également destinés à prolonger la conservation, comme le séchage (Adolph, 1955 ; Montagnac *et al.*, 2009).

Dans le Pacifique, les génotypes cultivés présentent généralement de relativement faibles teneurs en facteurs anti-nutritionnels et les modes de transformation et de cuisson traditionnels en Mélanésie sont assez limités, plus particulièrement au Vanouatou. En effet, pour la consommation quotidienne, les racines et tubercules sont principalement bouillis ou braisés, alors que le plat traditionnel est le *laplap* (Figure 7) pour lequel quelques variantes subtiles existent. En accord avec les précédents travaux (Akin-Idowu *et al.*, 2009 ; Failla *et al.*, 2009 ; Kumar and Aalbersberg, 2006a, 2006b ; Thakkar *et al.*, 2007), ces modes de cuisson ne présentent pas forcément un impact négatif sur l'absorption des métabolites intéressants pour la santé. Ainsi, aucune diminution des teneurs en composés majeurs n'est montrée (amidon, protéines, minéraux, sucres et fibres).

En ce qui concerne les métabolites secondaires, des études sur les caroténoïdes ont été menées sur quelques variétés et pour quelques espèces. Cependant, il nous manque une étude sur un échantillonnage plus vaste afin de pouvoir comparer de manière standardisée l'impact de ces procédés de transformation et de cuisson pour les RT. A notre connaissance, les diminutions observées pour les préparations culinaires rencontrées au Vanouatou, n'excèderaient pas 40%. En termes de biodisponibilité de ces composés lipophiles, l'emploi de matière grasse comme le lait de noix de coco paraît intéressant (Bengtsson *et al.*, 2009 ; Failla *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Amaya, 1997 ; Thakkar *et al.*, 2007).

Pour les composés phénoliques, les études sont plus rares et portent bien souvent sur les composés anti-nutritionnels. Néanmoins l'activité antioxydante et les teneurs en phénols totaux ne semblent pas être diminuées par la cuisson (Rabah *et al.*, 2004 ; Truong *et al.*, 2009). Ces résultats sont bien sûr à nuancer, tant le nombre de molécules produites par les réactions de Maillard lors de la cuisson, sont nombreuses et variées. Nous ne discuterons pas du pouvoir antioxydant et de son intérêt en termes de nutrition humaine, tant les actions et mécanismes avancés sont divers. Notons néanmoins que de nouvelles méthodes intégratives permettraient de donner une meilleure estimation de la capacité anti-oxydante et qu'il serait intéressant encore une fois de mener une étude comparative en conditions standardisées (Sun and Tanumihardjo, 2007).

Le séchage des organes de réserve des RT représente un intéressant moyen de détoxification, mais surtout de conservation, permettant également un transport et un stockage à moindre frais, essentiel en termes de sécurité alimentaire. Encore plus particulièrement en milieu insulaire isolé, comme certains atolls dont les sols sont peu fertiles, par exemple en Micronésie (Englberger *et al.*, 2008).

Nous avons présenté quelques utilisations potentielles de farines, tout en soulignant que la manière dont elles sont préparées et conservées influe sur les teneurs en métabolites secondaires, généralement sensibles à l'oxydation. A l'image de la quantité considérable de produits industriellement transformés à partir des grandes cultures amylacées des pays développés (la farine de blé par exemple), de nombreuses opportunités pour l'exploitation de ces farines mériteraient d'être explorées. Ainsi la confection de pain à partir de racines de patate douce à chair orange semble encourageante et ceci est appuyé par l'acceptation essentielle des consommateurs (Low and van Jaarsveld, 2008). L'accroissement de ce type

d'exploitation permettrait aussi d'encourager la promotion des RT. L'enjeu pour le développement des pays du Sud est donc double, d'une part augmenter la consommation de produits locaux et limiter les importations, mais également augmenter la valeur marchande de ces produits locaux et augmenter potentiellement les exportations.

Les métabolites secondaires que nous avons étudié, sont intéressants en termes de santé humaine. Malgré le fait que des transformations génétiques aient été réussies parmi les grandes cultures actuelles comme la pomme de terre et le riz « dorés », la demande en produits d'origine « naturelle » est toujours croissante. En ce qui concerne le Pacifique Sud, les régimes traditionnels basés sur les racines et tubercules, les feuilles, le poisson, la noix de coco et les fruits sont en pleine évolution et font place aux aliments importés comme riz et farine (FAO, 2009). Cette modification des comportements alimentaires a engendré une hausse alarmante de l'obésité, des maladies chroniques et de la malnutrition en général. La promotion de produits locaux semble donc essentielle pour assurer la sécurité alimentaire de ces populations.

En ce qui concerne la sélection traditionnelle des RT, les organes de réserve amylacés ont probablement encouragé leur domestication. L'homme a élaboré des procédés de transformation particuliers pour ces aliments et ceci est probablement lié aux grands nombres de facteurs anti-nutritionnels rencontrés chez ces espèces, et d'autant plus chez les génotypes sauvages. Les génotypes rencontrés dans le Pacifique sont connus pour posséder de faibles teneurs en composés anti-nutritionnels (Bradbury and Holloway, 1988).

Une question se pose donc : Comment peut-on expliquer les faibles teneurs rencontrées pour ces composés ? En d'autres termes, quels mécanismes ont favorisé ces caractéristiques si particulières ?

Il s'agit de plantes alimentaires et bien sûr en tant que telles, les propriétés organoleptiques sont un des objectifs de leur sélection. Il apparaît donc logique que les cultivateurs locaux aient tenté de sélectionner ces chimiotypes pour leurs propriétés, entraînant probablement au fur et à mesure l'exclusion volontaire mais inconsciente de ces composés, pourtant utiles à la défense de la plante. Puisque cette sélection traditionnelle a été réalisée dans différents écosystèmes par différentes communautés, elle ne peut expliquer à elle seule les résultats aussi remarquables que ceux observés au Vanouatou. Puisque ces composés sont liés à une certaine lutte pour la survie, l'efficacité de cette sélection aurait été rendue possible grâce à un environnement dans lequel la plante ne subit pas trop de stress. Les caractéristiques particulières de l'environnement rencontré sur des îles volcaniques comme l'archipel vanouatais pourrait peut-être permettre d'apporter des explications. En effet, les sols sont riches, mais surtout l'introduction de pathogènes ou ravageurs venant de l'extérieur est limitée par une barrière physique, l'océan. Le milieu insulaire expliquerait donc pour partie le fait que les génotypes océaniques présentent des caractéristiques organoleptiques et de rendements réellement remarquables. La possibilité d'appliquer une pression sélective forte pour ces caractéristiques grâce à un environnement privilégié aurait pu permettre de tels résultats en termes de sélection traditionnelle. Cependant, il existe aussi un corrolaire défavorable à ces caractéristiques environnementales. Par exemple, une épidémie dans ce type de milieu insulaire est dramatique pour les cultures et la catastrophe survenue sur l'archipel des Samoa en 1993 (Brooks, 2000), en est une parfaite illustration. Elle ressemble d'ailleurs à celle qu'a connue la pomme de terre en Irlande, une île aussi, lors de l'introduction du *Phytophthora infestans*.

En ce qui concerne les couleurs de chair, nous avons montré que la sélection visuelle est possible et que celle réalisée par les cultivateurs locaux est vraisemblablement responsable de la diversité observée à différents niveaux. A l'image des traditions socio-culturelles et des coutumes rencontrées sur l'archipel du Vanouatou, la diversité des chimiotypes de RT étudiés pendant ce travail s'est révélée remarquable, et pour certaines

espèces probablement unique au monde. Notons tout de même que nous avons montré que cette sélection visuelle était parfois délicate, surtout pour les teneurs élevées. Mais ceci est aussi confirmé chez le maïs pour lequel une échelle de nuances de jaune (à l'aide d'un code couleur allant de 1 à 6) n'a pas permis de révéler de corrélation avec les teneurs en caroténoïdes individuels et totaux, rendant ainsi la sélection visuelle difficile (Harjes *et al.*, 2008).

2.3 La sélection de chimiotypes

En ce qui concerne l'exploitation de ces plantes dont certaines sont considérées comme "orphelines de la recherche", les opportunités pour l'industrie sont nombreuses et peuvent être regroupées en trois catégories relatives aux propriétés recherchées. Ces trois potentiels d'exploitation restent à approfondir mais les espoirs sont réels.

Tout d'abord comme pour les cultures vivrières, l'exploitation en tant que culture de rente porte sur l'amidon. Les cibles industrielles sont nombreuses et variées et elles ont déjà été présentées au chapitre 2, pour une espèce dont l'exploitation est encore croissante, le manioc. Des caractéristiques particulières sont demandées et la variabilité présente chez les RT en fait une source très intéressante. Nous avons montré une variabilité des usages culinaires liées à des formations de texture différentes selon l'espèce, mais aussi des teneurs en amidon parfois très élevées. Quelques cultivars ont été caractérisés pour leur amidon et il paraît désormais intéressant d'engager des études plus approfondies sur la variabilité des compositions en amidon rencontrés chez ces espèces tropicales.

Une deuxième cible intéressante est représentée par l'industrie agro-alimentaire, et plus particulièrement par les colorants. Bien que quelques cultivars de patate douce et de grande igname (*D. alata*) soient déjà exploités, l'amélioration des teneurs et compositions pour ces pigments représente un enjeu considérable. Nous avons montré que certains génotypes vanouatais présentent des profils d'accumulation anthocyaniques plus riches que les cultivars déjà exploités. Ceci est valable pour le nombre total d'anthocyanes différentes mais aussi pour le nombre d'anthocyanes acylées et ces deux composantes sont liées à la stabilité des colorants produits (Giusti and Wrolstad, 2003). En ce qui concerne les caroténoïdes, ils sont utilisés depuis longtemps comme colorants alimentaires (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2006).

Le troisième groupe d'exploitation industrielle majeure concerne les molécules à destination des industries nutraceutique et pharmaceutique. Ce groupe concerne principalement les compléments alimentaires et bien sûr les provitamines A représentent un marché considérable. Le marché des anti-oxydants est également en pleine expansion et les composés phénoliques (principalement les flavonols et anthocyanes) prennent une place de plus en plus importante. Nous avons mis en évidence de fortes variations pour les teneurs et compositions de tous ces composés, mais également des teneurs élevées chez certains génotypes. A notre connaissance, nous avons aussi révélé des sources considérables encore jamais explorées, par exemple de flavonols chez le taro.

Comme nous avons tenté de le souligner au long de ce mémoire, il existe des différences importantes pour les caractères utiles à la plante, comme pour ceux intéressants pour la nutrition humaine. Par exemple, une étude montre sur 20 cultivars que les sept cultivars amers seraient plus riches en sucres totaux et en protéines que les cultivars doux, mais contiendraient par contre moins de fibres et donc une viscosité inférieure (Padonou *et al.*, 2005). Afin de fournir des génotypes toujours plus intéressants, les améliorateurs doivent effectuer une sélection de chimiotypes cohérentes avec les besoins locaux.

Notre travail a tenté d'éclairer différentes composantes de la sélection de ces chimiotypes. Afin de comprendre les préférences locales, nous avons étudié la sélection

traditionnelle des caractéristiques physico-chimiques. Surtout pour les teneurs en composés majeurs, mais nous avons aussi abordé les opportunités relatives à la biofortification en métabolites secondaires. Il convient de rappeler que ces plantes sont avant tout cultivées, dans les pays du Sud, pour leurs composés majeurs. Néanmoins, l'amélioration des aliments de base constitue la solution la mieux adaptée pour assurer la sécurité alimentaire. Un nombre important des métabolites secondaires que nous avons étudiés sont impliqués dans la résistance des plantes aux pathogènes et ravageurs. Ce caractère n'est bien sûr pas à négliger et demeure un objectif essentiel de l'amélioration des plantes. Une étude approfondie des relations entre ces composés et les phénomènes de résistance serait donc très utile.

Augmenter la robustesse des cultures, tout en augmentant les qualités nutritionnelles, est capital. On peut effectuer un parallèle avec des études ayant porté sur les produits issus de l'agriculture "biologique". Il est montré que les plantes en présence d'une pression d'inoculation élevée (par exemple bactérienne), présentent une production plus importante de composés phénoliques et une activité antioxydante plus élevée (Mitchell, 2009). Ceci serait corrélé à une activation plus importante des mécanismes de défense de la plante. Quels que soient les mécanismes impliqués, et ils sont évidemment très variés, la consommation de métabolites secondaires (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines, etc.) serait plus intéressante sous forme de fruits et légumes. Ces composés agiraient en synergie, expliquant ainsi les bienfaits observés par leur consommation, alors que l'activité des composés purifiés est controversée. Notons que les études cliniques en termes de nutrition sont très difficiles à mener et que l'on met de plus en plus fréquemment en évidence des effets relatifs au génotype du consommateur (German *et al.*, 2004).

3. L'amélioration génétique des chimiotypes, nouvelles méthodologies et nouveaux outils

Les coefficients de variation des teneurs en composés majeurs montrent pour toutes les espèces une forte variabilité, exceptée pour l'amidon. Ces résultats indiquent donc des opportunités pour la biofortification de ces composés au Vanouatou. Pour l'amidon, les maxima sont déjà très élevés (91%) et leur amélioration génétique s'avère donc fort complexe, si elle est encore possible.

Pour les améliorateurs, les données produites révèlent des accessions particulièrement intéressantes en tant que parents potentiels (indiquées en annexe 1), qui sont sélectionnés sur leurs valeurs propres, pour l'amélioration génétique. Ces données indiquent qu'un meilleur choix des parents permettrait d'obtenir un plus grand nombre d'hybrides proches des goûts des consommateurs, surtout dans le cadre de croisements contrôlés. Ces données pourraient aussi être utiles aux améliorateurs qui travaillent dans d'autres pays que le Vanouatou car, d'un point de vue méthodologique, elles révèlent l'importance de caractériser les chimiotypes des parents.

L'étude des relations entre ces composés révèle des corrélations qui dépendent de l'espèce concernée. Celles-ci suggèrent d'utiles associations permettant des stratégies d'amélioration plus efficaces. Si l'amélioration des teneurs en amidon et autres composés principaux risque d'être difficile à réaliser de manière concomitante, les sucres totaux et la cellulose, tout comme minéraux et protéines, devraient pouvoir être améliorés ensemble. La corrélation positive révélée chez la patate douce entre sucres totaux et protéines est intéressante. Chez le manioc, l'augmentation des teneurs en sucres pourrait se faire en même temps que celles en minéraux sans limiter les teneurs en protéines.

Les caroténoïdes et les anthocyanes varient fortement entre variétés d'une même espèce, ce qui indique un contrôle génétique. Pour la biofortification, cette variabilité intraspécifique permet l'identification de parents intéressants.

Si les marqueurs moléculaires actuellement disponibles limitent la structuration de la variabilité observée aux origines géographiques, l'approche par l'étude des chimiotypes permet de caractériser directement les variations des caractères utiles chez les RT, celles des organes souterrains. Nous avons montré que l'agrobiodiversité peut être abordée à travers le phénotypage des caractères physico-chimiques (chimiotypage) et ceci est en accord avec l'essor actuel de la métabolomique (Cevallos-Cevallos *et al.*, 2009) et les nombreuses applications mises au point. Ainsi, à partir de la caractérisation de la variabilité chimiotypique, il est possible d'effectuer une sélection assistée par marqueurs métaboliques (Arbona *et al.*, 2009 ; Fernie and Schauer, 2008). Celle-ci peut être réalisée de manière ciblée, par exemple à l'image de nos travaux sur la variabilité chimiotypique en certains composés intéressants. Cependant cette identification est un travail qui, aujourd'hui encore, est très fastidieux. Cette sélection assistée peut également être abordée sans a priori sur les marqueurs métaboliques et à partir du moment où des corrélations entre caractères utiles et chimiotypes sont mises en évidence, il n'est plus nécessaire d'identifier les composés impliqués.

Certaines des technologies employées pour cette partie du phénotypage (le chimiotypage) ne sont pas nouvelles, par contre de nombreuses applications sont innovantes. Ces stratégies de criblage métabolique impliquent le couplage de technologies de séparation et de détection. Par exemple, la séparation peut être réalisée par différents types de chromatographie et parmi les plus employées sont : la chromatographie liquide (CL), à haute performance (CLHP) ou encore à ultra performance (CLUP), la chromatographie gazeuse (CG) ou l'électrophorèse en capillaire (EC). Le couplage peut être effectué avec des types de détection comme : le spectrophotomètre simple ou à barrettes de diodes (DBD), la spectrométrie de masse (SM), la spectrométrie du proche infrarouge (SPIR) ou la résonnance magnétique nucléaire (RMN). La séparation augmente la précision de l'analyse mais elle n'est pas indispensable à ce genre d'étude. Nous avons d'ailleurs commencé à explorer les possibilités offertes par la SPIR, en travaillant sans séparation sur de la matière sèche sous forme de poudre. Notre étude concernant les composés majeurs (Annexe 4) laisse envisager l'exploitation future de cette technologie pour la sélection des RT. Les améliorateurs de céréales l'utilisent déjà en routine. Avec l'avancée de ces technologies, il est aujourd'hui possible de détecter des centaines de milliers de métabolites et le criblage de ces composés est devenu possible au sein d'un échantillon unique (Keurentjes, 2009).

Néanmoins, il apparaît aujourd'hui primordial d'associer les études de diversité chimiotypique aux études génotypiques plus courantes (Desjardins, 2008). Il est suggéré d'adopter une approche plus intégrative pour l'amélioration génétique des plantes. Comme précédemment résumé (Keurentjes, 2009), les avancées dans les techniques de phénotypage permettent désormais de combiner des approches focalisées sur différents niveaux d'étude, définis par les néologismes en « -omiques » (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique, fluxomique, mais aussi phénomique et exposomique pour l'étude du phénotype et celle des interactions entre celui-ci et l'environnement par exemple). Les métabolites sont souvent considérés comme les produits terminaux de l'expression de gènes et de l'activité protéique, cependant il est de plus en plus montré que ces produits sont impliqués dans des phénomènes de régulation à divers niveaux de la biosynthèse, comme par exemple le rétrocontrôle ou la signalisation (Dixon *et al.*, 2006). Ainsi, il paraît de plus en plus évident que la relation liant le génotype au phénotype (et donc au chimiotype) n'est pas linéaire et fonctionne comme un réseau. On se rapproche ainsi de plus en plus de l'étude de la diversité réelle tout en gardant à l'esprit que les relations complexes entre diversité génétique et phénotypique n'en sont encore qu'au stade d'esquisse (Keurentjes, 2009).

Dans une certaine mesure, nous avons caractérisé la diversité génétique *via* une approche chimiotypique, donc une approche impliquant des outils de métabolomique. Les approches métabolomiques permettent aujourd'hui l'étude d'une large gamme de métabolites en parallèle et sont appliquées au phénotypage, dans des études par exemple d'impact environnemental mais aussi de diversité en composition métabolique (Fernie and Schauer, 2008). L'approche de l'amélioration qui vise un métabolite à la fois devrait être remplacée par une approche visant plusieurs métabolites dans un même temps. L'amélioration des plantes utilisant la sélection assistée par marqueur (SAM) est souvent réalisée à l'aide d'outils de génomique impliquant la recherche de locus à caractère quantitatif (*QTL*). Par analogie, il est aujourd'hui entrepris d'utiliser des marqueurs transcriptomiques, que l'on nomme locus à caractère quantitatif exprimé (*eQTL*), ou encore à l'aide de marqueurs métabolomiques, que l'on nomme locus à caractère quantitatif métabolique (*mQTL*). Il est donc possible de disséquer en détail et de mieux en comprendre une voie métabolique. Puisqu'augmenter la synthèse d'un précurseur ne suffit pas toujours à augmenter le produit d'intérêt, il est désormais possible d'envisager l'étude de la voie complète.

Ces approches incorporent de très nombreuses informations et des outils très puissants de traitement des données sont nécessaires. Néanmoins, c'est l'aspect intégratif qu'il convient encore un fois de retenir et c'est lui qui est le plus représentatif de l'évolution actuelle de la biologie moderne (Cain *et al.*, 2008). Cette tendance intégrative est générale et les approches constituées par les différents niveaux d'études devraient permettre une meilleure compréhension des mécanismes complexes liant génotypes et chimiotypes et donc réduire le temps nécessaire à la production de cultivars élités tout en améliorant ses qualités.

De nombreuses voies potentiellement utiles à l'amélioration des plantes doivent encore être explorées et les limitations semblent plus économiques que conceptuelles.

4. Conclusions et Perspectives

Dans le cadre de notre travail, les protocoles pour la gestion de nos collections, les techniques de culture des accessions au champ, ainsi que les méthodes de préparation des échantillons pour l'analyse des composés majeurs et des métabolites secondaires ont permis la comparaison standardisée de nombreux génotypes. Ces comparaisons ont mis en exergue un contrôle génétique certain, une variabilité chimiotypique remarquable et ont apporté des éléments préliminaires en termes de transmission de ces caractères.

Par ailleurs, la méthodologie couramment utilisée pour l'amélioration génétique des RT a été évaluée et des points sensibles comme la précision du phénotypage (encore généralement visuel) ont été discutés. Ainsi, nous avons montré la présence de facteurs indissociables et les bases de la biofortification des RT ont pu être établies. Les corrélations doivent dorénavant être prises en compte pour s'approcher des idéotypes visés. En utilisant l'étude de la sélection traditionnelle comme révélateur des préférences locales, nous avons pu déterminer les chimiotypes qui permettront vraisemblablement une meilleure acceptation des nouveaux génotypes sélectionnés. L'image des préférences locales que nous avons tenté de dessiner permet une meilleure compréhension des usages culinaires passés et futurs. Le processus de sélection traditionnelle s'est montré efficace à bien des égards et il conviendrait maintenant d'accentuer la sélection participative. Ceci serait d'ailleurs en accord avec le fait que les teneurs en composés intéressants pour la santé varient selon l'environnement. Au vu des résultats remarquables montrés par ce processus d'amélioration traditionnelle, confier aux cultivateurs locaux la responsabilité d'une sélection participative pourrait s'annoncer fort constructif.

Nous avons aussi montré que la variabilité des teneurs en composés majeurs et métabolites secondaires est très importante. Or, des études précédentes montrent que l'influence des interactions entre génotype et environnement est significative chez les RT (Takahata *et al.*, 1992 ; Toyama *et al.*, 2006). Il semble désormais important d'appliquer notre méthodologie comparative à l'étude d'autres composantes de la diversité observée. Par exemple à travers l'étude de l'impact des différents paramètres environnementaux sur les teneurs en métabolites secondaires. Ceci pourrait être assez facilement réalisé par la culture d'un génotype sous différentes conditions pédoclimatiques, par exemple par le biais d'une forme de sélection participative.

Afin de préciser encore plus précisément les idéotypes que doivent cibler les améliorateurs, il paraît désormais intéressant d'évaluer l'impact réel de chaque mode de cuisson et pour chaque espèce. Au vu des différences de texture entre les espèces de RT et de l'importance que cette caractéristique prend dans la définition d'une préparation culinaire appréciée, il paraît essentiel d'étudier les déterminants précis qui mènent à sa formation. La diversité observée pour les caractères phénotypiques, ainsi que les usages associés, est remarquable au Vanouatou. Ce matériel constitue donc une belle opportunité pour étudier les relations entre transformation culinaire et structure pariétale ou compositions des amidons. Une exploration de ces chimiotypes très variables pourrait aussi permettre une meilleure compréhension des différents comportements à la cuisson. Ceci est valable pour les composés majeurs, les métabolites secondaires mais aussi pour le mucilage par exemple.

Le criblage de nombreux génotypes imposé par la sélection récurrente nécessite des outils de prédiction des teneurs en composés majeurs, comme en métabolites secondaires, plus pratiques et plus précis. Pour les pays en voie de développement, le coût du maintien et du criblage de la diversité chimiotypique à des fins d'amélioration reste trop élevé. En ce qui concerne les composés majeurs, les principales limitations proviennent du coût et du temps que prennent un dosage, mais aussi des quantités de produits chimiques employées. La mise au point de méthodes prédictive, utilisant par exemple la SPIR, constitue une alternative de choix. Le principal avantage est de pouvoir travailler sur de la matière brute solide, comme par exemple de la farine facilement préparée ou encore sur de la matière fraîche. Une fois l'appareil calibré, elle ne nécessite donc pas d'extraction ni de dosage qui utilisent des produits chimiques coûteux et difficilement recyclables. Une fois mis au point, la lecture très rapide du spectre d'absorption des échantillons associée à une équation de calibrage (équivalent de la gamme d'étalonnage utilisé en spectrophotométrie) pourrait donc permettre une estimation rapide des teneurs en composés majeurs.

La mise en évidence des faiblesses liées aux limites intrinsèques d'une sélection visuelle mérite également une étude plus approfondie. L'utilisation de nuanciers précis pour l'attribution visuelle des couleurs, voire le développement d'outils utilisant des mesures de cette couleur comme un chromamètre, seraient fort utiles. L'exploration des champs d'application de la SPIR pourrait être étendue aux métabolites secondaires, plus particulièrement aux composés phénoliques. Certains auteurs ont montré qu'il était même possible de déterminer les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et même l'activité anti-oxydante (Zhang *et al.*, 2008), bien que cela mériterait certainement d'être confirmé compte tenu des très faibles teneurs observées.

Jusqu'ici la variabilité génétique des teneurs de ces composés a été très peu étudiée chez ces plantes, et ceci semble très intéressant pour le taro qui contient par exemple des flavonols nombreux et concentrés. En ce qui concerne les anthocyanes, les poudres obtenues après séchage d'accessions à chaire colorée sont encore très violettes et à notre connaissance, même pour les composés les plus étudiés, aucune calibration n'a été mise au point. Le potentiel présagé par notre étude préliminaire en termes de prédiction des teneurs en

composés majeurs devrait aussi être exploité plus minutieusement pour les autres composés afin de garantir une sélection rapide et efficace.

Certaines accessions étudiées au cours de ce travail montrent des valeurs particulièrement remarquables, et ce pour des composés au demeurant parfois non-identifiés. Nous avons réalisé par exemple la première exploration des compositions et teneurs en composés phénoliques du taro mais aussi des caroténoïdes de l'igname de Guinée (*D. cayenensis-rotundata*). Ces espèces sont souvent produites et consommées localement et donc la valeur économique de ces cultures est largement sous-estimée. Elles constituent de plus l'alimentation de base de millions de personnes et sont très intéressantes d'un point de vue nutritionnel. Il serait donc utile de mettre en place des études permettant la caractérisation précise des métabolites secondaires qu'elles contiennent. Pour encore mieux valoriser ces plantes et pour confirmer les effets bénéfiques en termes de santé, de futurs travaux devraient porter sur l'étude inter-spécifique de l'activité anti-oxydante et sur la biodisponibilité de ces métabolites, tant au niveau individuel que dans les mélanges naturellement observés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abang M. M., Winter S., Mignouna H. D., Green K. R. & Asiedu R. (2003). Molecular taxonomic, epidemiological, and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. *African Journal of Biotechnology* 2, 486-496.
- Abraham K. & Nair P. G. (1990). Floral biology and artificial pollination in *Dioscorea alata* L. *Euphytica* 48, 45-51.
- Abraham K. (1997). Flowering deficiencies and sterility preventing natural seed set in *Dioscorea alata* cultivars. *Tropical Agriculture* 74, 272-276.
- Abraham K., Nair S. G., Sreekumari M. T & Unnikrishan M. (1986). Seed set and seedling variation in greater yam (*Dioscorea alata*). *Euphytica* 35, 337-343.
- Adams J. B. & Brown H. M. (2007). Discoloration in raw and processed fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47, 319-333.
- Adolph W. H. (1955). Some contributions of tropical peoples in the preservation of food materials. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 4, 461-464.
- Agbaje G. O., Tayo O., Chioma G. G. O. & Ajomale K. O. (2007). Evaluation of yellow-rooted cassava varieties for differences in β -carotene and gross energy. *Journal of Applied Sciences Research* 3, 946-948.
- Agbor-Egbe T. & Rickard J. E. (1990). Evaluation of the chemical composition of fresh and stored edible aroids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 53, 487-495.
- Akin-Idowu P. E., Asiedu R., Maziya-Dixon B., Odunola A. & Uwaifo A. (2009). Effects of two processing methods on some nutrients and anti-nutritional factors in yellow yam (*Dioscorea cayenensis*). *African Journal of Food Science* 3, 22-25.
- Akinwande B. A., Asiedu R., Adeyemi I. A. & Maziya-Dixon B. (2007). Influence of time of harvest on the yield and sensory attributes of white yam (*Dioscorea rotundata*) in Southwest Nigeria. *International Journal of Food, Agriculture and Environment* 5, 179-184.
- Akissoé N., Mestres C., Hounhouigan J. & Nago M. (2005). Biochemical origin of browning during the processing of fresh yam (*Dioscorea* spp.) into dried product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 2552-2557.
- Almeida-Muradian L. B. de, de Vuono Camargo Penteado M., de Ferreira V. L. P. (1992). Relationship between carotenoid content and hunter colour parameters of Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Review Español de Ciencia Tecnológico Alimenticio* 32, 611-619.
- Alves A. A. C. (2002). Chapitre 5: Cassava botany and Physiology. Dans *Cassava: Biology, Production and Utilization*., Hillocks R. J., Tresh J. M. & Bellotti A.C. (Eds). pp. 67-77. CAB International, UK.
- Amani N.G., Buléon A., Kamenan A. & Colonna P. (2004). Variability in starch and physicochemical and functional properties of yam (*Dioscorea* spp.) cultivated in Ivory Coast. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 2085-2096.
- Ammar M. S., Hegazy A. E. & Bedeir S. H. (2009). Using of taro flour as partial substitute of wheat flour in bread making. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 4, 94-99.
- Andersen Ø. M. & Fossen T. (1995). Anthocyanins with an unusual acylation pattern from stem of *Allium victorialis*. *Phytochemistry* 40, 1809-1812.
- Andersen Ø. M. & Markham K. R. (2006). Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. CRC Press (Ed). Boca Raton, Florida.
- Arbona V., Iglesias D. J., Talón M. & Gómez-Cadenas A. (2009). Plant phenotype demarcation using nontargeted LC-MS and GC-MS metabolite profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 7338-7347.

- Aregheore E. M. & Perera D. (2003). Dry matter, nutrient composition and palatability/acridity of eight exotic cultivars of cocoyams-taro (*Colocasia esculenta*) in Samoa. *Plant Foods for Human Nutrition* 58, 1-8.
- Attaluri S & Ilangantileke S. (2007). Evaluation and promotion of orange-fleshed sweetpotato to alleviate Vitamin A deficiency in Orissa and Eastern Uttar Pradesh of India. CTCRI. *Proceedings of the 13th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops*. Arusha, Tanzanie.
- Babu L. (2006). Carotene content in sweet potato varieties and its retention after processing. CTCRI. *14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops*. Abstracts of papers 2006, OP 8, 30-31. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Baguma Y., Chuanxin S., Ahlandsberg S., Mutisya J., Palmqvist S., Rubaihayo P. R., Magambo M. J.; Egwang T. G., Larsson H. & Jansson C. (2003). Expression patterns on the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Science* 164, 833-839.
- Balyejusa Kizito E., Rönnerberg-Wästljung A. C., Egwang T., Gullberg U., Fregene M. & Westerbergh A. (2007). Quantitative trait loci controlling cyanogenic glucoside and dry matter content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *Hereditas* 144, 129-136.
- Bayard V., Chamorro F., Motta J. & Hollenberg N. K. (2007). Does flavanol intake influence mortality from nitric oxide-dependent processes? Ischemic heart disease, stroke, diabetes mellitus, and cancer in Panama. *International Journal of Medical Sciences* 4, 53-58.
- Beattie J., Crozier A. & Duthie G. G. (2005). Potential health benefits of berries. *Current Nutrition and Food Science* 1, 71-86.
- Bengtsson A., Alminger M. L. & Svanberg U (2009) In vitro bioaccessibility of β -carotene from heat-processed orange-fleshed sweet potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 9693-9698.
- Benhamou N. (2009). La résistance chez les plantes. Tec et Doc, Hermès - Lavoisier (Eds). 376 p. Paris, France.
- Bhandari M. R. & Kawabata J. (2004). Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. *Food Chemistry* 88, 163-168.
- Bonierbale M., Grüneberg W., Amoros W., Burgos G., Salas E., Porras E. & zum Felde T. (2009). Total and individual carotenoid profiles in *Solanum phureja* cultivated potatoes: II. Development and application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) calibrations for germplasm characterization. *Journal of Food Composition and Analysis* 22, 509-516.
- Bonnemaison J. (1986). L'arbre et la pirogue. Les fondements d'une identité : territoire, histoire et société dans l'archipel de Vanuatu (Mélanésie). ORSTOM. *Travaux et documents* 201. 540 p. Paris, France.
- Bouis H. E. (2003). Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? *Proceedings of the Nutrition Society* 62, 403-11.
- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52, 67-87.
- Bourrieau M. (2000). Valorisation des racines et tubercules tropicaux pour l'alimentation humaine en Océanie: le cas du *laplap* au Vanuatu. Thèse de Mastère en génie agro-alimentaire méditerranéen et tropical. ENSAI/SIARC. 122 p. Montpellier, France.
- Brabet (1998). Starch content and properties of 106 sweetpotatoes clones from CIP genebank. CIP. *Program Report 1997-1998*. Lima, Peru.

- Bradbury J. H. & Holloway W. D. (1988). Chemistry of tropical root crops: Significance for nutrition and agriculture in the Pacific. *ACIAR Monograph N°6*. 201 p. Canberra, Australia.
- Bradbury J. H. & Nixon R. W. (1998). The acidity of raphides from the edible aroids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76, 608-616.
- Brattsten L. B., Samuelian J. H., Long K. Y., Kincaid S. A. & Evans C. K. (1983). Cyanide as a feeding stimulant for the southern armyworm. *Spodoptera eridania*. *Ecological Entomology* 8, 125-132.
- Bridle P. & Timberlake C. F. (1997). Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemistry* 58, 103-109.
- Brooks F. (2000). Taro leaf blight. Agriculture, human and natural resources. *Pests and Diseases of American Samoa* 3. Pago Pago, Samoa.
- Brown A. C. & Valiere A. (2004). The medicinal uses of poi. *Nutrition in Clinical Care* 7, 69-74.
- Brown J. P. (1980). A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutation Research* 75, 243-277.
- Brunnschweiler J., Mang D., Farah Z., Escher F., Conde-Petit B. (2006). Structure-texture relationships of fresh pastes prepared from different yam (*Dioscorea* spp.) varieties. *LWT - Food Science and Technology* 39, 762-769.
- Burton W. G. (1989). The Potato. *Longman Scientific and Technical/Wiley*, pp. 391-421. New York, USA.
- Cain C. J., Conte D. A., García-Ojeda M. E., Gómez Daglio L., Johnson L., Lau E. H., Manilay J. O., Baker Phillips J., Rogers N. S., Stolberg S. E., Swift H. F. & Dawson M. N. (2008). What systems biology is (not, yet). *Science* 320, 1013-1014.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández M. de L., Páez-Hernández M. E., Rodríguez J. A. & Galán-Vidal C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113, 859-871.
- Ceballos H. (2006a). Nutrition enhancement of cassava roots. *Harvest Plus*. Power Point Presentation.
- Ceballos H., Fregene M., Lentini Z., Sánchez T., Puentes Y., Pérez J. C., Rosero E. A. & Tofiño A.P. (2006b). Development and identification of high-value cassava clones. *Acta Horticulturae* 703, 63-70.
- Ceballos H., Iglesias C. A., Pérez J. C. & Dixon A. G. O. (2004). Cassava breeding: opportunities and challenges. *Plant Molecular Biology* 56, 503-516.
- Ceballos H., Sánchez T., Denyer K., Tofiño A.P., Rosero E. A., Dufour D., Smith A., Morante N., Pérez J. C. & Fahy B. (2008). Induction and identification of a small-granule, high-amylose mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 7215-7222.
- Ceballos H., Sánchez T., Morante N., Fregene M., Dufour D., Smith A. M., Denyer K., Pérez J. C., Calle F. & Mestres C. (2007). Discovery of an amylose-free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 7469-7476.
- Cevallos-Casals B. A. & Cisneros-Zevallos L. (2002). Bioactive and functional properties of purple sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Acta Horticulturae* 583, 195-203.
- Cevallos-Casals B. A. & Cisneros-Zevallos L. (2003). Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 3313-3319.
- Cevallos-Casals B. A. & Cisneros-Zevallos L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* 86, 69-77.

- Cevallos-Cevallos J. M., Reyes-De-Corcuera J. I., Etxeberria E., Danyluk M. D. & Rodrick G. E. (2009). Metabolomic analysis in food science. A review. *Trends in Food Science & Technology* 20, 557-566.
- Champagne A., Legendre L. & Lebot V. (2009). Chemotype profiling to guide breeders and explore traditional selection of tropical root crops in Vanuatu, South Pacific. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10363-10370.
- Chandler L. A. & Schwartz S. J. (1988). Isomerization and losses of *trans*- β -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36, 129-133.
- Chattopadhyay A., Chakraborty I., Mukhopadhyay S., Kumar P. & Sen H. (2006). Compositional changes of sweetpotato as influenced by cultivar, harvest date and cooking. *Acta Horticulturae* 703, 211-217.
- Chávez A. L., Sánchez T., Ceballos H., Rodríguez-Amaya D. B., Nestel P., Tohme J. & Ishitani M. (2007). Retention of carotenoids in cassava roots submitted to different processing methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 388-393.
- Chávez A. L., Sánchez T., Jaramillo G., Bedoya J. M., Echeverry J., Bolaños E. A., Ceballos H. & Iglesias C. A. (2005) Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. *Euphytica* 143, 125-133.
- Chen C. J., Huang C. Y., Huang J. K., Lin C. Y. & Lin C. T. (2009). Cloning, expression, and purification of a functional glutathione reductase from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam): Kinetic studies and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 4403-4408.
- Chen J., Devanand P. S., Henny R. J., Norman D. J. & Chao C.-C. T. (2004). Interspecific relationships of *Alocasia* revealed by AFLP analysis. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79, 582-586.
- Chiwona-Karlton L., Brimer L., Kalenga Saka J. D., Mhone A. R., Mkumbira J., Johansson L., Bokanga M., Mahungu N. M. & Rosling H. (2004). Bitter taste in cassava roots correlates with cyanogenic glucoside levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 581-590.
- Cho J. J. (2003). Breeding Hawaiian taros for the future. SPC. 2004. *Third International Taro Symposium*, Guarino L., Taylor M. & Osborn T. (Eds). Nadi, Fidgi.
- Cho J. J., Yamakawa R. A. & Hollyer J. (2007). Hawaiian kalo, past and future. *Sustainable Agriculture* 1, 8 p.
- Chu Y. H., Chang C. L. & Hsu H. F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 561-566.
- CIAT (2009). Medium-term plan 2010-2012: Eco-efficient agriculture for the poor. CGIAR. 2009.
- Collins J. L., Liao J. Y. & Penfield M. P. (1995). Chemical, physical and sensory attributes of formed and frozen, baked sweetpotato. *Journal of Food Science* 60, 465-467.
- Cooke D., Steward W. P., Gescher A. J. & Marczylo T. (2005). Anthocyanins from fruits and vegetables - Does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *European Journal of Cancer* 41, 1931-1940.
- Cooper D. A., Eldridge A. L. & Peters J. C. (1999). Dietary carotenoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: A review of recent research. *Nutrition Reviews* 57, 201-214.
- Coppens Y. & Picq P. (2001). Aux origines de l'humanité, 2. Le propre de l'homme. Fayard (Ed). 700 p. Paris, France.
- Delange F., Ekpechi L. O. & Rosling H. (1994). Cassava cyanogenesis and iodine deficiency disorders. *Acta Horticulturae* 375, 289-93.

- Demmig-Adams B., Gilmore A. M. & Adams W. W. (1996). Carotenoids 3: *In vivo* function of carotenoids in higher plants. *FASEB Journal* 10, 403-412.
- Desjardins A. E. (2008). Natural product chemistry meets genetics: When is a genotype a chemotype? *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 7587-7592.
- Dini I., Tenore G. C. & Dini A. (2006). New polyphenol derivative in *Ipomoea batatas* tubers and its antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 8733-8737.
- Dini I., Tenore G. C. & Dini A. (2009). Saponins in *Ipomoea batatas* tubers: Isolation, characterization, quantification and antioxidant properties. *Food Chemistry* 113, 411-419.
- Dixon A. R., Gang D. R., Charlton A. J., Fiehn O., Kuiper H. A., Reynolds T. L., Tjeerdema R. S., Jeffery E. H., German J. B., Ridley W. P. & Seiber J. N. (2006). Applications of metabolomics in agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 8984-8994.
- Duputié, A., Massol, F., David, P., Haxaire, C. & McKey, D. (2009) Traditional Amerindian cultivators combine directional and ideotypic selection for sustainable management of cassava genetic diversity. *Journal of Evolutionary Biology* 22, 1317-1325.
- Egesi C. N., Asiedu R., Egunjobi J. K. & Bokanga M. (2003). Genetic diversity based on organoleptic properties in water yam (*Dioscorea alata* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 858-865.
- Egesi C., Mba C., Tafur S., Castelblanco C., Morante N., Ceballos H. & Fregene M. (2004). Identification of naturally occurring and irradiation-induced mutant GBSSI allele of cassava in a heterozygous genetic background. CIAT. 2004. *Sixth International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network (CBN)*. Poster. Cali, Colombia.
- Eggleston G., Omoaka P. E. & Arowshegbe A. U. (1993). Flour, starch and alternative (wheatless) breadmaking quality of various cassava clones. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62, 61-66.
- Elameen A., Fjellheim S., Larsen A., Rognli O. A., Sundheim L., Msolla S., Masumba E., Mtunda K. & Klemsdal S. S. (2008). Analysis of genetic diversity in a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Tanzania as revealed by AFLP. *Genetic Resources of Crop Evolution* 55, 397-408.
- Elias M., Santos Mühlen G., McKey D., Roa A. C. & Tohme J. (2004). Genetic diversity of traditional south american landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. *Economic Botany* 58, 242-256.
- Ellis R. H., Hong T. D. & Roberts E. H. (1982). An investigation of the influence of constant and alternating temperature on the germination of cassava seed using a two dimensional temperature gradient plate. *Annals of Botany* 49, 241-246.
- Englberger L., Aalbersberg W., Ravi P., Bonnin E., Marks G. C., Fitzgerald M. H. & Elymore J. (2003d). Further analyses on Micronesian banana, taro, breadfruit and other foods for provitamin A carotenoids and minerals. *Journal of Food Composition and Analysis* 16, 219-236.
- Englberger L., Schierle J., Kraemer K., Aalbersberg W., Dolodolotawake U., Humphries J., Graham R., Reid A. P., Lorens A., Albert K., Levendusky A., Johnson E., Paul Y. & Sengebau F. (2008). Carotenoid and mineral content of Micronesian giant swamp taro (*Cyrtosperma*) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 93-106.
- Englberger L., Schierle J., Marks G. C. & Fitzgerald M. H. (2003c). Micronesian banana, taro, and other foods: newly recognized sources of provitamin A and other carotenoids. *Journal of Food Composition and Analysis* 16, 3-19.

- Erturk E. & Picha D. H. (2007). Effect of temperature and packaging film on nutritional quality of fresh-cut-sweet potatoes. *Journal of Food Quality* 30, 450-465.
- Evans D. (2009). CTAHR and Taro: Taro Research by the College of Tropical Agriculture and Human Resources. CTAHR Office of Communication Services (Ed). *Background Paper*. Manoa, Hawaii, USA.
- Ezell B. D. & Wilcox M. S. (1946). The ratio of carotene to carotenoid pigments in sweet potato varieties. *Science* 103, 193-194.
- Ezell B. D. & Wilcox M. S. (1952). Influence of storage temperature on carotene, total carotenoids and ascorbic acid content of sweetpotatoes. *Plant Physiology* 27, 81-94.
- Failla M. L., Thakkar S. K. & Kim J Y. (2009). In vitro bioaccessibility of β -carotene in orange fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas*, Lam.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10922-10927.
- FAO (2009). L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde : Crises économiques - répercussions et enseignements. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. 66 pp. Rome, Italia.
- FAO Stat, 2009. www.faostat.fao.org.
- Fernie A. R. & Schauer N. (2008). Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in Genetics* 25, 39-48.
- Forkmann G & Heller W (1999). Biosynthesis of flavonoids. Elsevier, Sankawa U. (Ed). *In Comprehensive Natural Products Chemistry*. pp.713-748. Amsterdam, Netherland.
- Francis S. T., Head K., Morris P. G. & Macdonald I. A. (2006). The effect of flavanol-rich cocoa on the fMRI response to a cognitive task in healthy young people. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 47, 215-220.
- Fraser P. D. & Bramley P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43, 228-265.
- Fregene M., Angel F., Gomez R., Rodriguez F., Chavarriaga P., Roca W., Tohme J. & Bonierbale M. (1997). A molecular genetic map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Theoretical and Applied Genetics* 95, 431-441.
- Furuta S., Suda I., Nishiba Y. & Yamakawa O. (1998). High tert-butylperoxyl radical scavenging activities of sweet potato cultivars with purple flesh. *Food Science and Technology International* 4, 33-35.
- German J. B., Bauman D. E., Burrin D. G., Failla M. L., Freake H. C., King J. C., Klein S., Milner J. A., Pelto G. H., Rasmussen K. M. & Zeisel S. H. (2004). Metabolomics in the opening decade of the 21st century: building the roads to individualized health. *The Journal of Nutrition* 134, 2729-2732.
- Ghan H. T. Jr., Kao-Jao T. H. C. & Nakayama T. O. M. (1977). Anthocyanin composition of taro. *Journal of Food Science* 42, 19-21.
- Gibson R. W. (2004). An overview of sweetpotato viruses in Africa. IITA, Hughes and Odu (Eds.). *In Plant Virology in sub-Saharan Africa*. pp. 61-111. Ibadan, Nigéria.
- Giusti M. M. & Wrolstad R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal* 14, 217-225.
- Goda Y., Shimizu H., Kato Y., Nakamura M., Maitani T., Yamada T., Terahara N. & Yamagushi M. (1997). Two acylated anthocyanins from purple sweet potato. *Phytochemistry* 44, 183-186.
- Gordon M. H. & An J. (1995). Antioxidant activity of flavonoids isolated from licorice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1784-1788.
- Gouado I., Aba Ejoh R., Issa J (2007). Carotenoids content of some locally consumed fruits and yams in Cameroon. *Pakistan Journal of Nutrition* 6, 497-501.

- Graham R., Senadhira D., Beebe S., Iglesias C. & Monasterio I, (1999). Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Research* 60, 57-80.
- Grassi D., Lippi C., Necozione S., Desideri G. & Ferri C. (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *American Journal of Clinical Nutrition* 81, 611-614.
- Graziano T. T., Machado de Campos Dietrich S. & de Cassia Leone Figueiredo-Ribeiro R. (1992). Characterization of starch of the underground system of *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott (*Araceae*) during plant development. *Reseña Brasileño do Fisiologia Vegetal* 4, 7-10.
- Grüneberg W. J., Bonierbale M., Roca W., Reynoso D., Espinoza J. & Burgos G. (2006). Biofortification of sweet potato for pro-vitamin A (beta-carotene), iron and zinc – What has been achieved and what is within reach? CTCRI. *14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops*. Abstracts of papers 2006, OP 10: 94-95. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Hagenimana V., Carey E. E., Gichuki S. T., Oyunga M. A. & Imungi J. K. (1999). Carotenoid contents in fresh, dried and processed sweetpotato products. *Ecology of Food & Nutrition* 37, 455-473.
- Harborne J. B. & Williams C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481-504.
- Harrison H. F. Jr., Mitchell T. R., Peterson J. K., Wechter W. P., Majetich G. F. & Snook M. E. (2008). Contents of caffeoylquinic acid compounds in the storage roots of sixteen sweet potato genotypes and their potential biological activity. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133, 492-500.
- Hartmann T., Kuchan T. M. & Strack D. (2005). Evolution of metabolic diversity. *Phytochemistry* 66, 1193-1194.
- HarvestPlus (2009). <http://www.harvestplus.org/>
- Hayashi K., Ohara N. & Tsuku A. (1996). Stability of anthocyanins in various vegetables and fruits. *Food Science and Technology International* 2, 30-33.
- Hillocks R. J., Thresh J. M. & Bellotti A. C. (2002). Cassava, Biology, Production and Utilization. CABI Publishing, UK.
- Hirschberg J. (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology* 4, 210-218.
- Hou W. C., Chen H. J. & Lin Y. H. (2000). Dioscorins from different *Dioscorea* species all exhibit both carbonic anhydrase and trypsin inhibitor activities. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41, 191-196.
- Hou W. C., Lee M. H., Chen H. J., Liang W. L., Han C. H., Liu Y. W. & Lin Y. H. (2001). Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 4956-4960.
- Hsu C. L., Chen W., Weng Y. M. & Tseng C. Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry* 83, 85-92.
- Hsu C. L., Hurang S. L., Chen W., Weng Y. M. & Tseng C. Y. (2004). Qualities and antioxidant properties of bread as affected by the incorporation of yam flour in the formulation. *International Journal of Food Science and Technology* 39, 231-238.
- Huang A. S., Lam S. Y., Nakayama T. M. & Lin H. (1994). Microbiological and chemical changes in poi stored at 20°C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 45-48.

- Huang C. C., Chen W. C. & Wang C. C. R. (2007). Comparison of Taiwan paddy- and upland-cultivated taro (*Colocasia esculenta* L.) cultivars for nutritive values. *Food Chemistry* 102, 250-256.
- Huang D. J., Chen H. J., Hou W. C., Lin C. D. & Lin Y. H. (2006). Sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam. 'Tainong 57') storage root mucilage with antioxidant activities in vitro. *Food Chemistry* 98, 774-781.
- Huang W. L., Huang H. Y., Huang P. L. & Tsai C. C. (2004). Molecular characterization of taro in Taiwan by RAPD markers. *Journal of the Agricultural Association of China* 5, 318-327.
- Iglesias C., Mayer J., Chavez L. & Calle F. (1997). Genetic potential and stability of carotene content in cassava roots. *Euphytica* 94, 367-373.
- IITA (2007). IITA annual report 2007. <http://www.iita.org>
- Imbert M. P. & Seaforth C. (1968). Anthocyanins in *Dioscorea alata*. *Experientia* 24, 445-447.
- Irwin S. V., Kaufusi P., Banks K., de la Peña R. & Cho J. J. (1998). Molecular characterization of taro (*Colocasia esculenta*) using RAPD markers. *Euphytica* 99, 183-189.
- Islam S., Porter O. A., Izekor S. E. & Garner J. O. (2007). Quality characteristics and yield attributes of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes grown under sustainable cultural conditions. *International Journal of Food, Agriculture and Environment* 5, 220-224.
- Ivancic A. & Lebot V. (2000). The genetics and breeding of taro. Repères-CIRAD (Eds). 194 p. Montpellier, France.
- Jaakola L., Määtä K., Pirttilä A. M., Törrönen R., Kärenlampi S. & Hohtola A. (2002). Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiology* 130, 729-739.
- Jaleel C. A., Gopi R. & Panneerselvam R. (2008). Biochemical alterations in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) under triazole fungicides: Impacts on tuber quality. *Czech Journal of Food Sciences* 26, 298-307.
- Jones A., Duke P. D. & Schalk J. M. (1986). Chapter 1: Sweet potato breeding. In *Breeding vegetable crops*. Basset M. J. (Ed). pp. 1-35. Westport, Connecticut, USA.
- Jos J. S., Bai K. V. & Sreekumari M. T. (1987). Triploidy as a tool in cassava improvement. CTCRI. *Proceedings of the National Symposium on Production and Utilization of Tropical Tuber Crops 1985*. Abstracts of papers, pp. 7-13. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Kamei H., Kojima T., Hasegawa M., Koide T., Umeda T., Yukawa T. & Terabe K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Investigation* 13, 590-594.
- Kano M., Takayanagi T., Harada K., Makino K. & Ishikawa F. (2005). Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 69, 979-988.
- Kawano K. (2003). Thirty years of cassava breeding for productivity - Biological and social factors for success. *Crop Science* 43, 1325-1335.
- Kawano K., Amaya A., Daza P. & Rios M. (1978). Factors affecting efficiency of election in cassava. *Crop Science* 18, 373-376.
- Kays S. J. and Kays S. E (1998). Sweetpotato chemistry in relation to health. Labonte D. R., Yamashita M. and Mochida H. (Eds). *Proceeding of the International Workshop on Sweetpotato, Production System toward the 21th century, 1998*. 358 p. KNAES, Myakonojo, Miyazaki, Japan.

- Kays S. J., Wang Y. & McLaurin W. J. (2005). Chemical and geographical assessment of the sweetness of the cultivated sweetpotato clones of the world. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130, 591-597.
- Keurentjes J. J. B. (2009). Genetical metabolomics: closing in on phenotypes. *Current Opinion in Plant Biology* 12, 223-230.
- Keutgen N., Keutgen A. J. & Janssens M. J. J. (2008). Sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] cultivated as tuber or leafy vegetable supplier as affected by elevated tropospheric ozone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6686-6690.
- Kimura M., Kobori C. N., Rodriguez-Amaya D. B. & Nestel P. (2007). Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry* 100, 1734-1746.
- King N. L. R. & Bradbury J. H. (1996). Bitterness of cassava: Identification of a new apiosyl glucoside and other compounds that affect its bitter taste. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 68, 223-230.
- Kohlmeier L. & Hastings S. B. (1995). Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *American Journal of Clinical Nutrition* 62, 1370-1376.
- Kojima M. & Uritani I. (1973). Studies on chlorogenic acid biosynthesis in sweet potato root tissue in special reference to the isolation of a chlorogenic acid intermediate. *Plant Physiology* 51, 768-771.
- KONARC (2000). <http://www.knaes.affrc.go.jp/sporf/nol5/m3.html>.
- KONARC int (2009). <http://www.knaes.affrc.go.jp/>.
- Konczac I., Okuno S., Yoshimoto M. & Yamakawa O. (2004). Caffeoylquinic acids generated in vitro in a high-anthocyanin-accumulating sweet potato cell line. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5, 287-292.
- K'osambo L. M., Carey E. E., Misra A. K., Wilkes J. & Hagenimana V. (1998). Influence of age, farming site, and boiling on pro-vitamin A content in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) storage roots. *Journal of Food Composition and Analysis* 11, 305-321.
- Kreike H., van Eck H. J. & Lebot V. (2004). Genetic diversity of taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, in Southeast Asia and the Pacific. *Theoretical and Applied Genetics* 109, 761-768.
- Kumara S. & Aalbersberg B. (2006a). Nutrient retention in foods after earth-oven cooking compared to other forms of domestic cooking. 1. Proximates, carbohydrates and dietary fibre. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 302-310.
- Kumara S. & Aalbersberg B. (2006b). Nutrient retention in foods after earth-oven cooking compared to other forms of domestic cooking. 2. Vitamins. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 311-320.
- Lakhanpaul S., Velayudhan K. C. & Bhat K. V. (2003). . Analysis of genetic diversity in Indian taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50, 603-609.
- Lako J., Craige Trenerry V., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. & Premier R. (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry* 101, 1727-1741.
- Lau F. C., Shukitt-Hale B. & Joseph J. A. (2006). Beneficial effects of berry fruit polyphenols on neuronal and behavioral aging. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2251-2255.
- Lebot V. & Aradhya K. M. (1991). Isozyme variation in taro *Colocasia esculenta* (L.) Schott from Asia and Oceania. *Euphytica* 56, 55-66.

- Lebot V. (2009). Tropical root and tuber crops: Cassava, sweet potato, yams and aroids. CABI. *Crop Production Science in Horticulture Series* 17. 432 p. CABI Publishing, UK.
- Lebot V., Ivancic A. & Abraham K. (2005). The geographical distribution of allelic diversity, a practical means of preserving and using minor root crop genetic resources. *Experimental Agriculture* 41, 475-489.
- Lebot V., Ivancic A. & Quero-García J. (2006a). Comparative performance of local and introduced cultivars of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) in Vanuatu. CTCRI. *14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops*. Abstracts of papers 2006, OP 22, 45-51. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Lebot V., Malpa R., Molisalé T. & Marchand J. L. (2006b). Physico-chemical characterisation of yam (*Dioscorea alata* L.) cultivars from Vanuatu. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53, 1199-1208.
- Lebot V., Prana M. S., Kreike N., van Eck H., Pardales J., Okpul T., Gendua T., Thongjiem M., Hue H., Viet N. & Yap T. C. (2004). Characterisation of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) genetic resources in Southeast Asia and Oceania. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51, 381-392.
- Lebot V., Trilles B., Noyer J.-L. & Modesto J. (1998). Genetic relationships between *Dioscorea alata* L. cultivars. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45, 499-508.
- Letenneur L., Proust-Lima C., LeGouge A., Dartigues J. F. & Barberger-Gateau P. (2007). Flavonoid intake and cognitive decline over a 10-year period. *American Journal of Epidemiology* 165, 1364-1371.
- Lev-Yadun S. & Gould K. S. (2009). Role of Anthocyanins in Plant Defence. Springer (Ed). *In Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications*. pp. 1-28. New York, USA.
- Liu S. C., Lin J. T. & Yang D. J. (2009). Determination of *cis*- and *trans*-a- and b-carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times. *Food Chemistry* 116, 605-610.
- Lockwood S., King J. M. & Labonte D. R. (2008). Altering pasting characteristics of sweet potato starches through amino acid additives. *Journal of Food Science* 73, 373-377.
- Low J. W. & van Jaarsveld P. J. (2008). The potential contribution of bread buns fortified with beta-carotene-rich sweet potato in Central Mozambique. *Food and Nutrition Bulletin* 29, 98-107.
- Macz-Pop G. A., Rivas-Gonzalo J. C., Pérez-Alonso J. J. & González-Paramás A. M. (2006). Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* 94, 448-456.
- Mahalakshmi V., Atalobhor Q. Ng J., Oguniola D., Lawson M. & Ortiz R. (2007). Development of a West African yam *Dioscorea* spp. core collection. *Genetic Resources of Crop Evolution* 54, 1817-1825.
- Malapa R., Arnau G., Noyer J. L. & Lebot V. (2005). Genetic diversity of the greater yam (*Dioscorea alata* L.) and relatedness to *D. nummularia* Lam. and *D. transversa* Br. as revealed with AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52, 919-929.
- Manach C., Mazur A. & Scalbert A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology* 16, 77-84.
- Mano H., Ogasawara F., Sato K., Higo H. & Minobe Y. (2007). Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous roots of purple-fleshed sweet potato. *Plant Physiology* 143, 1252-1268.

- Manrique I. & Roca W. (2007). Potential of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) biodiversity as a functional food in the tropics. EULAF. *Workshop: Functional Foods and Medicinal Products Developments from Amazonian Crops*, 2007. OP13-35. Rio de Janeiro, Brazil.
- Manrique K. & Hermann M. (2000). Effect of GxE interaction on root yield and betacarotene content of selected sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L) Lam.) varieties and breeding clones. *Research on Sweetpotato*, CIP Program Report 1999-2000.
- Maoka T., Akimoto N., Ishiguro K., Yoshinaga M. & Yoshimoto M. (2007). Carotenoids with a 5,6-dihydro-5,6-dihydroxy- β -end group, from yellow sweet potato "Benimasari", *Ipomoea batatas* Lam. *Phytochemistry* 68, 1740-1745.
- Mares J. A., LaRowe T. L., Snodderly D. M., Moeller S. M., Grubber M. J., Klein M. L., Wooten B. R., Johnson E. J. & Chappel R. J. (2006). Predictors of optical density of lutein and zeaxanthin in retinas of older women in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study, an ancillary study of the Women's Health Initiative. *American Journal of Clinical Nutrition* 84, 1107-1122.
- Mariappan D., Winkler J., Parthiban V., Doss M. X., Hescheler J. & Sachinidis, A. (2006). Dietary small molecules and large-scale gene expression studies: an experimental approach for understanding their beneficial effects on the development of malignant and non-malignant proliferative diseases. *Current Medicinal Chemistry* 13, 1481-1489.
- Martí H. R. (2003). Estimation of sample size in skin and flesh color measurements of dry flesh sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L) Lam.). *Scientia Horticulturae* 98, 331-336.
- Martin F. W. & Ruberte R. (1976). The polyphenol of *Dioscorea alata* (Yam) tubers associated with oxidative browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24, 67-70.
- Martin F. W., Cabanillas E. & Guadalupe R. (1975). Selected varieties of *Dioscorea alata* L., the Asian Greater yam. *Journal of Agriculture, University of Puerto Rico* 59, 165-171.
- Martin F. W., Telek L. & Ruberte R. (1974). The yellow pigments of *Dioscorea bulbifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 22, 335-337.
- Mayer A. M. & Harel, E. (1979). Polyphenol oxidase in plants. *Phytochemistry* 18, 193-215.
- Mestres C., Dorthe S., Akissoé . & Hounhouigan J. D. (2004). Prediction of sensorial properties (color and taste) of amala, a paste from yam chips flour of West Africa, through flour biochemical properties. *Plant Foods for Human Nutrition* 59, 93-99.
- Mignouna H. D., Abang M. M. & Asiedu R. (2003). Harnessing modern biotechnology for tropical tuber crop improvement: Yam (*Dioscorea* spp.) molecular breeding. *African Journal of Biotechnology* 2, 478-485.
- Mitchell A. E. (2009). The influence of agricultural farming practices and commercial processing on the nutritional density and value of fruits and vegetables. FAVHealth. *3rd International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables*, 2009. Présentation Orale. Avignon, France
- Miyazaki K., Makino K., Iwadate E., Deguchi Y. & Ishikawa F. (2008). Ayamurasaki suppress the development of atherosclerotic lesions and both enhancements of oxidative stress and soluble vascular cell adhesion molecule-1 in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 11485-11492.
- Montagnac J. A., Davis C. R. & Tanumihardjo S. A. (2009). Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8, 17-27.
- Moyer R. A., Hummer K. E., Finn C. E., Frei B. & Wrolstad R. E. (2002). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 519-525.

- Naissides M., Pal S., Mamo J. C. L., James A. P. & Dhaliwal S. (2006). The effect of chronic consumption of red wine polyphenols on vascular function in postmenopausal women. *European Journal of Clinical Nutrition* 60, 740-745.
- Nassar N. M. A. (2007a). Wild and indigenous cassava, *Manihot esculenta* Crantz diversity: An untapped genetic resource. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54, 1523-1530.
- Nassar N. M. A., Vizzotto C. S., Schwartz C. A. & Pires Júnior O. R. (2007b). Cassava diversity in Brazil: the case of carotenoid-rich landraces. *Genetics and Molecular Research* 6, 116-121.
- Neuhouser M. L. (2004). Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. *Nutrition and Cancer* 50, 1-7.
- Nindjin C., Otokoré D., Hauser S., Tschannen A., Farah Z. & Girardin O. (2007). Determination of relevant sensory properties of pounded yams (*Dioscorea* spp.) using a locally based descriptive analysis methodology. *Food Quality and Preference* 18, 450-459.
- Nishino H, Murakoshi M., Tokuda H. & Satomi Y. (2009). Cancer prevention by carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 483, 165-168.
- Noda T., Takahata Y., Sato T., Ikoma H. & Moshida H. (1997). Combined effects of planting and harvesting dates on starch properties of sweet potato roots. *Carbohydrate Polymers* 33, 169-176.
- Nordbotten A., Løken E. B. & Rimestad A. H. (2000). Sampling of potatoes to determine representative values for nutrient content in a national food composition table. *Journal of Food Composition and Analysis* 13, 369-377.
- Noyer J.-L., Billot C., Weber A., Quero-Garcia J. & Lebot V. (2004). Genetic diversity of taro (*Colocasia esculenta* L.) assessed by SSRs markers. Guarino L. and Taylor M. (Eds). *Proceedings of the 3rd International Taro Symposium, 2004*. SPG-IPGRI-FAO-CIRAD. Nadi, Fidji.
- Odake K., Terahara N., Saito N., Toki K. & Honda T. (1992). Chemical structures of two anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry* 31, 2127-2130.
- Oka M., Sarakarn S. & Limsila J. (1989). Growth characteristics of a recommended cassava cultivar, Rayong 3, in Thailand. *Japanese Journal of Crop Science* 58, 390-394.
- Oke O. L. (1994). Eliminating cyanogens from cassava through processing: technology and tradition. *Acta Horticulturae* 375, 163-174.
- Oki T., Masuda M., Furuta S., Nishiba Y., Terahara N. & Suda I. (2002). Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. *Journal of Food Science* 67, 1752-1756.
- Oki T., Nagai S., Yoshinaga M., Nishiba Y. & Suda I. (2006). Contribution of β -carotene to radical scavenging capacity varies among orange-fleshed sweet potato cultivars. *Food Science and Technology Research* 12, 156-160.
- Okon-Abraham C. (2006). Breeding cassava for better nutrition. Universidade de Brasília. Ortiz R. and Nassar N. (Eds.). *In First International Meeting on Cassava Breeding, Biotechnology and Ecology "Cassava improvement to enhance livelihoods in sub-Saharan Africa and northeastern Brazil"*. Book of Abstracts, 1-03, p. 25. Brasília, Brazil.
- Onayemi, O. (1985). Sensory texture profile of African foods made from yam and cassava. *Journal of Texture Studies* 16, 263-269.
- Opore-Obisaw C., Danquah A. O., Doku E. V., Boakye B. B. & Ansah-Kissiedu D. (2000). Consumer evaluation of five new sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. *Journal of Consumer Studies and Home Economics* 24, 61-65.

- Osundahunsi O. F., Fagbemi T. N., Kesselman E. & Shimoni E. (2003). Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2232-2236.
- Osuntokun B. O. (1994). Chronic cyanide intoxication of dietary origin and a degenerative neuropathy in Nigerians. *Acta Horticulturae* 375, 311-321.
- Otegbayo B., Aina J., Abbey L., Sakyi-Dawson E., Bokanga M. & Asiedu R. (2007). Texture profile analysis applied to pounded yam. *Journal of Texture Studies* 38, 355-372.
- Otegbayo B., Aina J., Asiedu R. & Bokanga M. (2006). Pasting characteristics of fresh yams (*Dioscorea* spp.) as indicators of textural quality in a major food product - 'pounded yam'. *Food Chemistry* 99, 663-669.
- Padda M. S. & Picha D. H. (2007). Methodology optimization for quantification of total phenolics and individual phenolic acids in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) roots. *Journal of Food Science* 72, 412-416.
- Padda M. S. & Picha D. H. (2008). Quantification of phenolic acids and antioxidant activity in sweetpotato genotypes. *Scientia Horticulturae* 119, 17-20.
- Padonou W., Mestres C. & Coffi Nago M. (2005). The quality of boiled cassava roots: instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties. *Food Chemistry* 89, 261-270.
- Pérez E., Jiménez Y., Dufour D., Sanchez T., Giraldo A., Gilbert O. & Reynex M. (2009). Discovery of three varieties of *Dioscorea trifida* grown in Venezuelan Amazons, with quite low-amylose starch: i. Physical attributes and proximate composition of the tubers and characterization of its waxy starches. FAVHealth. *3rd International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables, 2009*. Poster. Avignon, France.
- Philpott M., Ferguson L. R., Gould K. S. & Harris P. J. (2009). Anthocyanidin-containing compounds occur in the periderm cell walls of the storage roots of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Plant Physiology* 166, 1112-1117.
- Philpott M., Gould K. S., Markham K. R., Lewthwaite S. L. & Ferguson L. R. (2003). Enhanced coloration reveals high antioxidant potential in new sweetpotato cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 1076-1082.
- Purcell A. E. & Walter W. M. (1968b). Carotenoids of Centennial variety of sweetpotato, *Ipomoea batatas* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 16, 769-770.
- Purcell A. E. (1962). Carotenoids of Goldrush sweet potato flakes. *Food technology* 16, 99-102.
- Purcell A. E., Swaisgood H. E. & Pope D. T. (1972). Protein and amino acid content of sweet potato cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 97, 30-33.
- Purcell A. E., Walter W. M., Nicholaides Jr. J. J., Collins W. W. & Chancy H. (1982). Nitrogen, potassium, sulfur fertilization, and protein content in sweet potato roots. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 107, 425-427.
- Quénéhervé P. (1999). Les nématodes de l'igname. CIRAD-INRA-ORSTOM-CORAF. *Dans L'igname, plante séculaire et culture d'avenir, 1997*. pp. 193-204. Montpellier, France.
- Quero-García J., Courtois B., Ivancic A., Letourmy P., Risterucci A. M., Noyer J.-L., Feldmann Ph. & Lebot V. (2006). First genetic maps and QTL studies of yield traits of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Euphytica* 151, 187-199.
- Quero-García J., Noyer J.-L., Perrier X., Marchand J.-L. & Lebot V. (2004). Use of AFLP markers to validate a stratification of taro germplasm (*Colocasia esculenta*) based on agromorphological descriptors. *Euphytica* 137, 387-395.

- Rabah I. O., Hou D. X., Komine S. I. & Fujii M. (2004). Potential chemopreventive properties of extract from baked sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam. Cv. Koganesengan). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7152-7157.
- Publication year: 2010
- Source:, In Press, Corrected Proof, Available online 19 January
- Rafalski J. A. (2010). Association genetics in crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology*
- Rajendran P. G., Mohan C. & Sreekumar J. (2005). Standardisation of true cassava seed (TCS) programme with special emphasis on more homogeneous, CMD resistant progenies. *Euphytica* 142, 13-22.
- Rao A. V. & Rao L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55, 207-216.
- Raoult-Wack A. L. & Bricas N. (2002). Ethical issues related to food sector evolution in developing countries: About sustainability and equity. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 15, 325-334.
- Rasper V. & Coursey D. G. (1967). Anthocyanins of *Dioscorea alata* L. *Experientia* 23, 611-612.
- Rechner A. R. & Kroner C. (2005). Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. *Thrombosis Research* 116, 327-334.
- Renaud S. & de Logeril M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet* 339, 1523-1526.
- Reyes L. F., Miller Jr. J. C. & Cisneros-Zevallos L. (2004). Environmental conditions influence the content and yield of anthocyanins and total phenolics in purple- and red-flesh potatoes during tuber development. *American Journal of Potato Research* 81, 187-193.
- Rickard J.E. (1985). Physiological deterioration in cassava roots. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36, 167-176.
- Rodriguez-Amaya D. B. (1997). Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. John Snow (Ed). Inc/OMNI Project, 1997. Brazil.
- Rodriguez-Amaya D. B. (1997). Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. OMNI, Washington, DC, USA.
- Rodriguez-Amaya D. B., & Kimura M. (2000). Harvestplus handbook for carotenoid analysis. *Harvestplus technical monograph* 2. IFPRI and CIAT. Washington, DC and Cali.
- Rodriguez-Amaya D. B., Kimura M., Godoy H. T. & Amaya-Farfan J. (2008). Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 445-463.
- Rodriguez-Amaya D. B., Rodriguez E. B. & Amaya-Farfa J. (2006). Advances in food carotenoid research: Chemical and technological aspects, implications in human health. *Malaysian Journal of Nutrition* 12, 101-121.
- Ruberte R. (1975). Carotenoid pigments of *Dioscorea alata*. *Tropical Root Tuber Crops News-letter* 8, 23-24.
- Safo-Kantaka O., Boampong E. Y. & Asante I. K. (2002). Morphological characterization of a collection of cassava germplasm in Ghana. ISTRC. *Proceedings of potential of root crops for food and industrial resources, 12th symposium of ISTRC, 2000*. pp. 77-81. Tsukuba, Japan.

- Sahoo M. R., DasGupta M., Kole P. C., Bhat J. S. & Mukherjee A. (2007). Antioxidative enzymes and isozymes analysis of taro genotypes and their implications in *Phytophthora* blight disease resistance. *Mycopathologia* 163, 241-248.
- Sakai W. S. (1979). Aroid root crops, acidity and raphids. Inglett G. E. and Charalambous G. (Eds). *Proceedings of an International Conference on Tropical Foods, Chemistry and Nutrition*, 1979. pp. 265-278, Honolulu, Hawaii, USA.
- Sánchez T., Chávez L., Ceballos H., Rodriguez-Amaya D. B., Nestel P. & Ishitani M. (2006). Reduction or delay of post-harvest physiological deterioration in cassava roots with higher carotenoid content. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 634-639.
- Sánchez T., Salcedo E., Ceballos H., Dufour D., Mafla G., Morante N., Calle F., Pérez J. C., Debouck D., Jaramillo G. & Ximena Moreno I. (2009). Screening of Starch Quality Traits in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Starch* 61, 12-19.
- Sardos J. (2008a). Conditions du maintien de la biodiversité des plantes à racines et tubercules au Vanouatou : diversités spécifiques et variétales et gestion de ces diversités. Thèse de doctorat CIESSA-SIBAGHE. Montpellier, France.
- Sardos J., McKey D., Duval M. F., Malapa R., Noyer J. L. & Lebot V. (2008b) Evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) after recent introduction into South Pacific Island system: the contribution of sex to the diversification of a clonally propagated crop. *Genome* 51, 912-921.
- Sardos J., Rodier-Goud M., Dambier D., Malapa R., Noyer J. L. & Lebot V. (2009). Evidence for spontaneous polyploidization in cassava *Manihot esculenta* Crantz. *Plant Systematics and Evolution* 283, 203-209.
- Satin M. (1998). Functional properties of starches. FAO Agricultural and Food Engineering Technologies Service. Rome, Italia.
- Schnell R. J., Goenaga R. & Olano C. T. (1999). Genetic similarities among cocoyam cultivars based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Scientia Horticultura* 80, 267-276.
- Silva J. L., Yazid M. D., Ali M. D. & Ammerman G. R. (1989). Effect of processing method on products made from sweet potato mash. *Journal of Food Quality* 11, 387-396.
- Siméoni P. (2009). Atlas du Vanouatou (Vanuatu). Géo-consulte (Ed). Port-Vila, Vanouatou.
- Simonne A. H., Kays S. J., Koehler P. E. & Eitenmiller R. R. (1993). Assesment of β -carotene content in sweetpotato breeding lines in relation to dietary requirement. *Journal of Food Composition and Analysis* 6, 336-345.
- Singleton V. L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178.
- Siqueira M. V. B. M., Queiroz-Silva J. R., Bressan E. A., Borges A., Pereira K. J. C., Pinto J. G. & Veasey E. A. (2009). Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. *Genetics and Molecular Biology* 32, 104-110.
- Sreekumari M. T. (1997). Cytological studies in taro - A review. *Journal of Root Crops* 23, 1-7.
- Sreekumari M. T., Jos J. S. & Nair S. G. (1999). 'Sree Harsha': A superior triploid hybrid in cassava. *Euphytica* 106, 1-6.
- Stafford H. A. (1991). Flavonoid evolution: an enzymic approach. *Plant Physiology* 96, 680-685.
- Stahl W. & Sies H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochemica et Biophysica Acta* 1740, 101-107.

- Stintzing F. C., Stintzing A. S., Carle R., Frei B. & Wrolstad R. E. (2002). Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6172-6181.
- Stringham J. M. & Hammond B. R. (2007). Macular pigment and visual performance under glare conditions. *Optometry and Vision Science* 85, 82-88.
- Suda I., Ishikawa F., Hatakeyama M., Miyawaki M., Kudo T., Hirano K., Ito A., Yamakawa O. & Horiuchi S. (2008). Intake of purple sweet potato beverage affects on serum hepatic biomarker levels of healthy adult men with borderline hepatitis. *European Journal of Clinical Nutrition* 62, 60-67.
- Suda I., Oki T., Masuda M., Kobayashi M., Nishiba Y. & Furuta, S. (2003). Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *The Japan Agricultural Research Quarterly* 37, 167-173.
- Sun T. & Tanumihardjo S. A. (2007). An integrated approach to evaluate food antioxidant capacity. *Journal of Food Science* 72, 159-165.
- Sundaresan S., Nambisan B. & Easwari Amma C. S. (1987). Bitterness in cassava in relation to cyanoglucoside content. *Indian Journal of Agricultural Science* 57, 37-40.
- Takahata Y., Noda T. & Nagata T. (1992). Varietal diversity of free sugar composition in storage root of sweet potato. *Japanese Journal of Breeding* 42, 515-521.
- Takahata Y., Noda T. & Nagata T. (1993). HPLC determination of β -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japanese Journal of Breeding* 43, 421-427.
- Tanaka Y., Data E. S., Hirose S., Taniguchi T. & Uritani I. (1983). Biochemical changes in secondary metabolites in wounded and deteriorated cassava roots. *Agricultural and Biological Chemistry* 47, 693-700.
- Tanimoto T. & Matsumoto T. (1986). Variations of morphological characters and isozyme patterns in Japanese cultivars of *Colocasia esculenta* Schott and *Colocasia gigantea* Hook. *Japanese Journal of Breeding* 36, 100-111.
- Teow C. C., Truong V. D., McFeeters R. F., Thompson R. L., Pecota K. V. & Yencho G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry* 103, 829-838.
- Terahara N., Shimizu T., Kato Y., Nakamura M., Maitani T., Yamaguchi M. & Goda Y. (1999). Six diacylated anthocyanins from the storage roots of purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry* 54, 919-922.
- Terasawa N., Saotome A., Tachimura Y., Mochizuki A., Ono H., Takenaka M. & Murata M. (2007). Identification and some properties of anthocyanin isolated from zuiki, stalk of *Colocasia esculenta*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4154-4159.
- Thakkar S. K., Huo T., Maziya-Dixon B. & Failla M. L. (2009). Impact of style of processing on retention and bioaccessibility of β -carotene in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 1344-1348.
- Thakkar S. K., Maziya-Dixon B., Dixon A. G. & Failla M. L. (2007). Betacarotene micellarization during in vitro digestion and uptake by Caco-2 cells is directly proportional to beta-carotene content in different genotypes of cassava. *Journal of Nutrition* 137, 2229-2233.
- Tian Q., Konczak I. & Schwartz S. J. (2005). Probing anthocyanin profiles in purple sweet potato cell line (*Ipomoea batatas* L. Cv. Ayamurasaki) by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 6503-6509.
- Toyama J., Yoshimoto M. & Yamakawa O. (2006). Selection of sweet potato lines with high protein content and/or low trypsin inhibitor activity. *Breeding Science* 56, 17-23.

- Trèche S. & Agbor-Egbe T. (1996). Biochemical changes occurring during growth and storage of two yam species. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 47, 93-102.
- Trèche S. (1998). Valeur nutritionnelle des ignames. Berthaud (Ed.). *Proceeding of International Yam Symposium, 1988*. pp. 305-331. CIRAD-INRA-ORSTOM. Montpellier, France.
- Truong V. D., McFeeters R. F., Thompson R. T., Dean L. L. & Shofran B. (2009). Phenolic acid content and composition in leaves and roots of common commercial sweetpotato (*Ipomea batatas* L.) cultivars in the United States. *Journal of Food Science* 72, 343-349.
- Tsukui A. (1988). Stability of anthocyanin pigments of Philippine powdered purple yam - Effect of pH, light and oxygen-. *Nippon Kasei Gakkaishi* 39, 209-215 (in Japanese).
- Tsukui A. (1989). Stability of anthocyanin pigments of Philippine powdered purple yam - Effect of inorganic salts, organic acids, sugars, phenols, L-ascorbic acids and hydrogen peroxide-. *Nippon Kasei Gakkaishi* 40, 15-22 (in Japanese).
- Tushara R., Nambisan B., Unnikrishnan M. & Vilama B. (2006). Distribution of carotenoids in yellow fleshed cassava cultivars. CTCRI. *14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops, 2006*. Abstracts of papers, pp. 80-81. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Uritani I. (1999). Biochemistry on postharvest metabolism and deterioration of some tropical tuberous crops. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 40, 177-183.
- USDA (1981). United States Standards for Grades of Sweetpotatoes. *United States Department of Agricultural Marketing Service*. Washington, DC, USA.
- USDA (2000). Agriculture fact book. *U.S. Department of Agriculture, Office of Communications*. 304 p. Washington DC, USA.
- Vernier P., Dossou R. A. & Letourmy P. (2000). Influence de la fertilisation chimique sur les qualités organoleptiques de l'igname. *Cahiers de l'Agriculture* 9, 131-134.
- Vimala B., Thushara R., Nambisan B. & Sreekumar J. (2006). Evaluation of orange-fleshed sweet potatoes for tuber yield and carotene content. CTCRI. *14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops*. Abstracts of papers 2006, p. 55. Thiruvananthapuram, Kerala, India.
- Walle T. (2004). Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine* 36, 829-837.
- Westby A. & Choo B. K. (1994). Cyanogen reduction during lactic fermentation of cassava. *Acta Horticulturae* 375, 209-15.
- White W. L. B., McMahon J. M. & Sayre R. T. (1994). Regulation of cyanogenesis in cassava. *Acta Horticulturae* 375, 69-77.
- WHO (2009a). Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005. *WHO Global Database on Vitamin A Deficiency*. Genève, World Health Organization.
- WHO.int (2009b). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/fr/index.html>
- Wijewickreme A. N. & Kitts D. D. (1998). Oxidative reactions of model maillard reaction products and α -tocopherol in a flour-lipid mixture. *Journal of Food Science* 63, 466-471.
- Williamson G. & Manach C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *American Journal of Clinical Nutrition* 81, 243-255.
- Wills R. B. H., Lim J. S. K., Greenfield H. & Bayliss-Smith T. (1983). Nutrient composition of taro (*Colocasia esculenta*) cultivars from the Papua New Guinea highlands. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34, 1137-1142.

- Winkel-Shirley B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology* 126, 485-493.
- Wright M. E., Mayne S. T., Swanson C. A., Sinha R. & Alavanja M. C. R. (2003). Dietary carotenoids, vegetables, and lung cancer risk in women: the Missouri Women's Health Study (United States). *Cancer Causes and Control* 14, 85-96.
- Wu X., Sun C., Yang L., Zeng G., Liu Z. & Li Y. (2008). β -carotene content in sweet potato varieties from China and the effect of preparation on β -carotene retention in the Yanshu No. 5. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9, 581-586.
- Yeh A. I., Chan T. Y. & Chuang G. C. C. (2009). Effect of water content and mucilage on physico-chemical characteristics of Yam (*Dioscorea alata* Purpurea) starch. *Journal of Food Engineering* 95, 106-114.
- Yoshinaga M., Yamakawa O. & Nakatani M. (1999). Genetic diversity of anthocyanin content and composition in purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Breeding Science* 49, 43-47.
- Zhang C., Shen Y., Chen J., Xiao P. & Bao J. (2008). Nondestructive prediction of total phenolics, flavonoid contents, and antioxidant capacity of rice grain using near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 8268-8272.
- Zhang H., Wang L., Deroles S., Bennett R. & Davies K. (2006). New insight into the structures and formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. *BMC Plant Biology* 6(29), 1-14.
- Zheng W. & Clifford M. N. (2008). Profiling the chlorogenic acids of sweet potato (*Ipomoea batatas*) from China. *Food Chemistry* 106, 147-152.
- Zohouri G. P. (1999). Les maladies de l'igname (*Dioscorea* spp.). Dans *L'igname, plante séculaire et culture d'avenir*, 1997. pp. 223-230. CIRAD-INRA-ORSTOM-CORAF. Montpellier, France.

ANNEXES



Plantation de lignes de plantules d'hybrides de taro

Annexe 1 : Analyses des composés majeurs de 504 génotypes de RT.

Nom Vernaculaire	Type ⁽¹⁾	Pays ⁽²⁾	Ile d'origine ⁽³⁾	Espèce ⁽⁴⁾	Identification	Matière sèche ⁽⁵⁾	Amidon ⁽⁶⁾	Sucres Totaux ⁽⁶⁾	Protéines ⁽⁶⁾	Minéraux ⁽⁶⁾	Cellulose ⁽⁶⁾
<i>samsin ret and</i>	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU037	17,72	65,50	6,70	7,10	<u>6,34</u>	<u>5,20</u>
	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU049		<u>84,68</u>	1,98	6,06	3,78	2,54
	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU059a	23,88	79,70	3,40	6,70	4,00	3,60
	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU059b	20,18	82,75	3,14	5,70	3,66	2,32
<i>tarapatan</i>	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU065		82,99	3,83	4,71	3,79	2,94
<i>arume</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU074a	27,24	<u>84,10</u>	1,10	5,30	3,37	3,30
<i>arume</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU074b	32,04	81,54	2,25	6,89	3,32	2,51
<i>peta ni bankis</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU105		79,89	4,52	4,54	3,39	2,96
<i>vunlako</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU125		77,43	2,70	<u>8,34</u>	3,93	3,70
<i>tunoandi</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU141		81,49	3,14	5,03	4,17	2,88
<i>tsinon</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU142		<u>84,85</u>	2,53	3,62	3,59	2,10
<i>worogeisakeo</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU158		<u>86,98</u>	2,41	4,54	3,60	3,17
<i>andelestui</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU163	17,97	83,80	4,70	5,90	2,48	2,60
<i>pora loma puro</i>	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU203		83,18	2,41	5,16	3,56	2,51
<i>astaso woman</i>	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU207		81,40	3,52	5,85	4,05	2,62
<i>brabik</i>	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU209	60,42	<u>84,60</u>	1,10	5,40	4,05	2,40
<i>draes</i>	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU220	18,57	78,00	3,10	5,50	<u>5,52</u>	<u>5,10</u>
	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU224		80,23	2,74	<u>7,45</u>	3,79	2,51
<i>chapolis six</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU236		78,89	2,91	5,33	3,83	4,17
<i>fatar</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU267		<u>85,02</u>	1,69	5,81	4,06	2,87
<i>james</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU268	21,80	73,70	6,70	5,60	<u>6,03</u>	3,10
<i>vanarapulu</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU281	24,63	80,10	4,70	6,30	3,92	2,70
<i>tavuntora</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU287	27,15	80,00	5,40	4,10	4,06	2,10
<i>napuarangrang</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU298		81,24	3,26	4,91	4,87	3,48
<i>humsoho</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU343		80,31	2,61	3,69	4,74	3,76
<i>narohe</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU350		82,51	2,97	5,00	4,06	2,60
<i>vanahamatsin</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU369		76,53	4,47	3,99	4,15	3,28
<i>noholihopoe</i>	CVS	VU	San	Ce	CeVU372		79,20	1,88	<u>7,46</u>	4,76	3,23
<i>and maxse</i>	CVS	VU	Ary	Ce	CeVU389	19,96	74,60	1,00	<u>9,20</u>	<u>5,30</u>	4,10
<i>ketngoingoi</i>	CVS	VU	Van	Ce	CeVU397	16,36	70,10	3,80	6,40	<u>8,13</u>	<u>4,50</u>
	CVS	ID		Ce	CeID399	42,11	<u>88,20</u>	1,60	4,80	1,73	1,40
<i>targalomala</i>	CVS	VU	Mae	Ce	CeVU404a	32,86	82,80	4,50	4,20	1,97	2,20
<i>tarkalumal</i>	CVS	VU	Mae	Ce	CeVU404b		82,80	4,50	4,20	1,97	2,20
<i>hadanatna</i>	CVS	VU	Mae	Ce	CeVU409		74,35	4,72	<u>7,30</u>	4,61	4,06
<i>tari visuago</i>	CVS	VU	Mae	Ce	CeVU429		77,94	2,96	6,92	<u>5,37</u>	<u>4,81</u>
<i>laliko</i>	CVS	VU	Tan	Ce	CeVU455	23,85	82,50	3,60	4,10	3,93	<u>6,50</u>
<i>tansivenloa</i>	CVS	VU	Tan	Ce	CeVU461a	25,12	74,40	<u>11,60</u>	5,30	4,27	3,60
<i>tansivenloa</i>	CVS	VU	Tan	Ce	CeVU461b		79,22	2,34	5,05	4,92	3,38
<i>yarkarkem</i>	CVS	VU	Tan	Ce	CeVU463	24,50	75,50	6,40	6,50	2,83	3,10
<i>sisiguele</i>	CVS	VU	Tan	Ce	CeVU493		75,62	3,69	5,24	4,97	3,50
<i>bulezachens</i>	CVS	VU	Abe	Ce	CeVU501	16,53	70,80	<u>8,60</u>	4,70	<u>6,08</u>	4,20
<i>namba fur</i>	CVS	VU	Mal	Ce	CeVU1068	23,77	73,00	7,30	2,90	3,80	3,30
<i>maewo</i>	CVS	VU	Mka	Ce	CeVU1475	23,21	77,20	3,90	3,40	4,23	3,60
<i>biak nawe burkal</i>	CVS	VU	Epi	Ce	CeVU1560	11,48	74,10	<u>11,40</u>	7,20	3,47	4,10
<i>matsual</i>	CVS	VU									
<i>tarik</i>	CVS	VU	Pen	Ce	CeVU1807	26,83	81,00	1,90	5,50	3,60	2,90
<i>santo lopouvine</i>	CVS	VU	Abe	Ce	CeVU1934	15,55	64,60	4,10	5,90	<u>6,52</u>	<u>7,30</u>

CVS	MY	Ce	CeMY030		82,47	4,08	5,35	3,17	2,21
CVS	MY	Ce	CeMY144		77,27	4,31	5,04	3,98	3,95
CVS	PH	Ce	CePH03	36,13	<u>85,00</u>	6,00	3,60	1,47	2,00
CVS	PH	Ce	CePH04		82,43	2,99	4,96	3,20	2,93
CVS	PH	Ce	CePH14a1	23,48	77,20	3,50	3,00	4,35	3,80
CVS	PH	Ce	CePH14a2	23,80	75,50	4,10	3,90	4,34	3,80
CVS	PH	Ce	CePH14b		72,63	6,66	4,05	4,55	3,44
CVS	PH	Ce	CePH39	26,45	<u>85,90</u>	0,90	2,30	3,53	2,90
CVS	PH	Ce	CePH49		80,62	3,84	4,22	3,15	2,28
CVS	PH	Ce	CePH54	33,84	83,10	4,50	4,50	2,51	3,10
CVS	PH	Ce	CePH55		81,61	4,06	5,38	3,36	2,36
CVS	PH	Ce	CePH86		83,48	4,75	4,77	3,40	2,28
CVS	ID	Ce	CeID218		72,93	5,53	<u>7,47</u>	4,99	3,70
CVS	ID	Ce	CeID316		83,10	1,67	<u>7,69</u>	3,27	3,80
CVS	ID	Ce	CeID392		<u>88,20</u>	1,60	4,80	1,73	1,40
CVS	ID	Ce	CeID061	38,59	<u>85,50</u>	1,20	5,10	2,56	1,60
CVS	TH	Ce	CeTH001a	26,85	80,20	2,30	6,80	3,40	3,40
CVS	TH	Ce	CeTH001b	27,00	77,08	4,88	<u>7,43</u>	3,16	3,53
CVS	TH	Ce	CeTH012	22,36	75,80	4,90	5,10	4,21	3,60
CVS	VN	Ce	CeVN50	18,91	67,00	<u>17,30</u>	6,20	2,27	4,10
HYB		Ce	CeHYB01		80,27	5,16	6,36	4,14	<u>4,41</u>
HYB		Ce	CeHYB03		75,67	5,92	6,55	3,81	2,51
HYB		Ce	CeHYB04		76,15	5,93	4,69	4,33	2,81
HYB		Ce	CeHYB05		77,60	3,69	5,70	4,43	3,11
HYB		Ce	CeHYB06		78,02	5,56	4,76	4,43	2,95
HYB		Ce	CeHYB07		79,76	4,81	<u>7,73</u>	3,59	2,16
HYB		Ce	CeHYB08		<u>87,05</u>	5,35	2,78	3,59	2,38
HYB		Ce	CeHYB09		<u>84,04</u>	3,23	3,28	3,31	2,30
HYB		Ce	CeHYB10		82,43	4,22	3,25	3,48	<u>6,64</u>
HYB		Ce	CeHYB11		<u>85,07</u>	7,45	3,70	4,10	2,95
HYB		Ce	CeHYB12		<u>84,57</u>	5,59	2,67	3,51	2,76
HYB		Ce	CeHYB13		78,20	4,43	4,58	4,52	<u>5,96</u>
HYB		Ce	CeHYB14		74,25	6,42	3,90	4,91	3,02
HYB		Ce	CeHYB15		69,72	<u>9,84</u>	5,33	4,15	3,47
HYB		Ce	CeHYB16		76,16	5,02	5,27	4,21	3,00
HYB		Ce	CeHYB17		70,60	<u>8,59</u>	4,65	4,88	3,79
HYB		Ce	CeHYB19		79,52	4,69	5,01	4,23	2,26
HYB		Ce	CeHYB20		69,98	<u>8,70</u>	5,27	4,85	<u>6,15</u>
HYB		Ce	CeHYB21		79,66	6,60	2,52	2,68	3,47
HYB		Ce	CeHYB22		71,48	<u>8,36</u>	3,43	4,79	3,99
HYB		Ce	CeHYB24		74,56	7,72	3,05	4,52	3,31
HYB		Ce	CeHYB26		71,38	<u>8,92</u>	4,23	4,03	3,15
HYB		Ce	CeHYB27		78,36	6,12	3,55	4,65	3,32
HYB		Ce	CeHYB28		69,97	<u>9,28</u>	4,97	<u>5,13</u>	4,38
HYB		Ce	CeHYB29		70,13	<u>8,28</u>	5,45	4,85	<u>4,48</u>
HYB		Ce	CeHYB31		76,75	7,40	2,42	3,66	3,26
HYB		Ce	CeHYB34		73,62	7,74	5,50	4,76	2,72
HYB		Ce	CeHYB35		79,58	5,47	4,09	3,30	2,64
HYB		Ce	CeHYB36		<u>84,13</u>	3,71	3,57	2,93	2,37
HYB		Ce	CeHYB37		78,76	6,37	5,34	3,59	3,15
HYB		Ce	CeHYB38		79,85	5,21	7,12	4,42	2,54
HYB		Ce	CeHYB39		66,88	<u>9,46</u>	6,46	<u>5,86</u>	<u>4,62</u>
HYB		Ce	CeHYB40		77,41	5,84	7,03	3,80	3,58
HYB		Ce	CeHYB41		80,17	4,52	<u>14,79</u>	3,69	2,76

	HYB		Ce	CeHYB42	75,66	<u>8,21</u>	<u>12,25</u>	4,14	3,93		
	HYB		Ce	CeHYB43	81,06	4,37	<u>10,16</u>	3,80	3,21		
	HYB		Ce	CeHYB44	81,51	3,26	5,07	3,62	3,43		
	HYB		Ce	CeHYB47	78,49	4,44	4,33	4,48	3,62		
	HYB		Ce	CeHYB48	83,41	4,10	3,38	3,10	3,11		
	HYB		Ce	CeHYB49	75,80	7,19	4,84	3,89	3,17		
	HYB		Ce	CeHYB50	82,80	4,61	3,09	3,07	2,78		
	HYB		Ce	CeHYB4502	76,47	5,43	3,57	4,58	<u>4,71</u>		
	HYB		Ce	CeHYB3023	60,77	<u>18,58</u>	3,11	4,51	<u>4,89</u>		
	HYB		Ce	CeHYB4633	65,27	<u>9,81</u>	5,18	<u>5,55</u>	4,32		
	HYB		Ce	CeHYB2532	63,25	<u>10,58</u>	<u>9,32</u>	4,86	4,19		
navilu	CVS	VU	Mka	Da	DaVU008	31,14	79,40	2,40	9,30	4,20	<u>4,60</u>
vitibarei	CVS	VU	Mka	Da	DaVU021	22,58	81,40	0,40	10,80	4,40	2,50
malabong hivo	CVS	VU	Mae	Da	DaVU049		77,40	1,90	10,20	4,71	2,20
	CVS	VU	Efa	Da	DaVU231	22,75	76,60	1,10	13,00	5,38	2,40
nabulalas	CVS	VU	Mka	Da	DaVU264	23,40	80,40	2,10	10,20	4,86	2,50
nabatebate	CVS	VU	Mka	Da	DaVU280	25,54	<u>83,10</u>	1,60	9,40	5,88	2,20
nivikimlak	CVS	VU	Mka	Da	DaVU286	24,85	78,80	1,10	11,50	5,02	1,70
lalas mamba	CVS	VU	Mka	Da	DaVU297	24,71	81,60	1,20	10,90	5,55	2,00
bughi toa	CVS	VU	Abe	Da	DaVU313		<u>82,70</u>	0,60	9,50	<u>7,78</u>	2,40
rave	CVS	VU	San	Da	DaVU400	25,16	79,90	2,00	10,90	5,72	2,20
raranaeolo	CVS	VU	San	Da	DaVU402	15,89	76,40	1,50	12,70	5,16	3,00
thirao	CVS	VU	Pen	Da	DaVU418		78,80	2,70	13,00	3,75	2,20
maligni	CVS	VU	Pen	Da	DaVU422		73,40	<u>5,90</u>	8,40	5,07	2,60
buntun ankapkap	CVS	VU	Pen	Da	DaVU424a		<u>85,00</u>	1,20	9,30	<u>6,14</u>	1,50
buntun ankapkap	CVS	VU	Pen	Da	DaVU424b		<u>82,50</u>	1,40	9,10	5,00	2,30
vusivari	CVS	VU	San	Da	DaVU431		<u>82,30</u>	1,00	8,60	4,61	2,00
vavulararajuju	CVS	VU	San	Da	DaVU447		81,10	2,00	9,00	2,69	2,40
vavula	CVS	VU	San	Da	DaVU448		74,10	0,60	<u>15,90</u>	<u>6,37</u>	3,10
malakula lulu	CVS	VU	San	Da	DaVU451		72,10	<u>5,40</u>	11,70	5,20	<u>6,30</u>
viravira	CVS	VU	Mal	Da	DaVU457		75,70	4,01	10,14	5,39	3,13
teitsi	CVS	VU	Efa	Da	DaVU478		<u>82,50</u>	0,60	9,70	4,49	3,00
tenaru	CVS	VU	Efa	Da	DaVU483		77,50	3,00	10,50	4,63	2,20
viripoa	CVS	VU	Efa	Da	DaVU485	26,70	77,00	2,50	7,40	4,84	2,30
purufea	CVS	VU	Efa	Da	DaVU487	24,06	<u>83,20</u>	0,70	9,10	<u>7,19</u>	2,50
bisro	CVS	VU	Mka	Da	DaVU534	22,87	77,00	2,30	10,30	3,92	2,00
rengreng	CVS	VU	Mka	Da	DaVU536	26,56	79,40	<u>4,90</u>	7,70	3,03	1,70
behenzen	CVS	VU	Mka	Da	DaVU539	22,88	77,10	2,10	11,60	3,40	2,20
dapa man	CVS	VU	Mka	Da	DaVU551L	25,16	75,80	2,10	10,10	5,36	2,30
dapa woman	CVS	VU	Mka	Da	DaVU551S		79,51	2,38	9,48	4,13	2,07
svoka	CVS	VU	Mka	Da	DaVU552	32,20	<u>85,00</u>	0,70	8,60	5,11	2,10
valise	CVS	VU	Mka	Da	DaVU555	27,17	81,20	1,30	9,90	<u>6,11</u>	1,90
red tumas	CVS	VU	Mka	Da	DaVU556	32,85	79,10	<u>4,80</u>	11,40	3,24	2,10
romsup	CVS	VU	Mka	Da	DaVU573	24,13	80,30	2,10	10,10	4,57	3,30
	CVS	VU	San	Da	DaVU594	24,81	<u>83,10</u>	1,40	10,20	3,74	2,20
	CVS	VU	San	Da	DaVU595	24,68	77,60	2,10	<u>18,30</u>	<u>6,85</u>	2,20
	CVS	VU		Da	DaVU602	18,75	75,40	2,60	11,50	4,83	2,80
natevetev	CVS	VU	Ton	Da	DaVU604		81,80	4,10	6,80	3,98	1,80
	CVS	VU		Da	DaVU605		75,10	1,70	11,90	<u>7,78</u>	2,40
malirigi	CVS	VU	Pen	Da	DaVU633		76,50	3,30	10,70	5,59	3,20
malalagi	CVS	VU	Pen	Da	DaVU639		75,55	2,22	11,49	4,51	2,77
nablokon	CVS	VU	Ero	Da	DaVU725a	26,28	76,50	0,70	14,10	<u>8,14</u>	2,00
nablokon	CVS	VU	Ero	Da	DaVU725b	29,95	81,20	1,50	11,00	3,74	2,00
colega	CVS	VU	Fut	Da	DaVU740	30,52	78,10	1,70	11,70	6,10	2,00

<i>mara beleru</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1004	25,11	81,30	1,30	9,40	5,00	<u>4,70</u>
<i>tumas wobatu</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1013	24,39	79,60	0,90	10,70	<u>6,49</u>	2,00
<i>vur vur</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1029	32,63	76,50	3,40	12,80	4,60	2,90
<i>baloe boe</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1042	24,12	78,00	1,10	10,50	4,92	2,50
<i>livuha karae</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1047	23,02	79,70	<u>6,70</u>	7,90	4,98	<u>4,60</u>
<i>blan bujo</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1048	9,11	75,80	1,00	13,70	5,21	<u>4,90</u>
<i>bisiroe tugmana bao</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1049	22,45	79,70	1,90	8,20	4,68	2,50
<i>dam sugar</i>	CVS	VU	Mal	Da	DaVU1076	21,41	71,60	<u>10,20</u>	6,50	4,35	3,30
<i>wap</i>	CVS	VU	San	Da	DaVU1137	21,49	77,30	<u>5,00</u>	9,90	4,43	2,30
<i>neri</i>	CVS	VU	San	Da	DaVU1176	24,69	78,50	1,00	11,10	4,67	<u>4,40</u>
<i>tarpotono</i>	CVS	VU	San	Da	DaVU1181	21,91	79,30	1,60	9,10	4,39	2,70
<i>ross</i>	CVS	VU	Tan	Da	DaVU1286	22,56	77,30	1,30	12,40	<u>8,10</u>	2,70
<i>yam bouss blank</i>	CVS	VU	Tan	Da	DaVU1308	25,74	77,40	1,70	13,70	5,29	1,90
<i>nouprien</i>	CVS	VU	Tan	Da	DaVU1312		71,34	2,75	14,25	4,01	3,34
<i>ifti</i>	CVS	VU	Tan	Da	DaVU1313	27,19	79,50	3,30	10,90	3,65	3,00
<i>moete</i>	CVS	VU	Tan	Da	DaVU1335	26,25	75,50	2,90	9,40	3,31	2,80
<i>manivi pareae</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1417	30,95	77,30	1,90	10,90	4,37	1,70
<i>laklak</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1452	27,29	80,30	<u>8,20</u>	8,20	3,04	3,40
<i>wel</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1481		70,70	<u>10,60</u>	11,10	5,68	2,20
<i>valis</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1485		76,50	3,40	13,10	4,16	2,20
<i>ravar ninetfat</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1499		77,10	1,50	10,60	5,25	<u>5,50</u>
<i>ptris tenbou</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1503		81,20	2,50	9,20	4,14	3,00
<i>vliirha</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1504		74,10	2,70	13,30	3,97	2,90
<i>nakrae perhperh miel</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1505	25,90	79,10	2,00	9,50	3,51	2,40
<i>navilao</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1511	20,54	75,80	4,40	11,00	3,95	2,50
<i>ioup miae</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1538	51,79	77,80	2,80	10,30	2,87	<u>4,50</u>
<i>santo</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1539	19,19	71,70	<u>7,00</u>	10,60	3,14	<u>4,20</u>
<i>marsamous natembiep</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1541	23,76	81,20	1,90	10,10	3,58	3,10
<i>koulatchi</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1575	24,98	81,40	2,60	9,60	3,33	2,80
<i>marsepsou</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1589	28,59	76,50	2,60	12,80	3,89	2,30
<i>melba</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1590		74,74	1,96	13,05	3,97	2,84
<i>apéis</i>	CVS	VU	Mka	Da	DaVU1620	19,68	74,90	2,60	12,90	3,54	3,70
<i>viten tapili</i>	CVS	VU	Ary	Da	DaVU1623a	23,07	<u>82,20</u>	1,10	9,30	3,45	2,30
<i>viten tapili</i>	CVS	VU	Ary	Da	DaVU1623b		76,50	2,10	10,90	4,38	2,60
	CVS	IND		Da	DaIND004		67,67	0,97	<u>18,23</u>	5,19	3,28
	CVS	IND		Da	DaIND033		76,62	1,47	11,65	3,54	3,47
	CVS	IND		Da	DaIND054a	19,80	71,80	<u>5,60</u>	12,20	3,56	3,00
	CVS	IND		Da	DaIND054		70,27	0,97	<u>16,79</u>	4,68	<u>5,03</u>
	CVS	IND		Da	DaIND055		62,53	2,68	<u>16,50</u>	4,20	<u>5,38</u>
	CVS	IND		Da	DaIND068		68,20	2,37	14,11	<u>6,88</u>	2,64
	CVS	IND		Da	DaIND073		59,18	1,85	<u>21,00</u>	5,15	<u>4,99</u>
	CVS	IND		Da	DaIND082		58,78	<u>5,86</u>	<u>17,19</u>	5,32	<u>5,02</u>
	CVS	IND		Da	DaIND085		59,50	<u>5,29</u>	<u>17,39</u>	4,98	<u>4,34</u>
	CVS	IND		Da	DaIND092		70,71	1,27	<u>18,21</u>	4,60	3,35
	CVS	IND		Da	DaIND097		78,02	1,17	12,44	3,84	1,90
	CVS	IND		Da	DaIND104		70,29	2,13	<u>17,40</u>	4,57	2,70
	CVS	IND		Da	DaIND111		67,90	4,46	<u>15,62</u>	4,20	2,94
	CVS	IND		Da	DaIND115		76,36	0,84	13,22	2,67	2,39
	CVS	IND		Da	DaIND124		75,29	1,14	13,30	5,26	2,37
	CVS	IND		Da	DaIND125	21,68	72,70	2,70	<u>15,30</u>	5,36	<u>4,50</u>
<i>pevu takar</i>	CVS	VU	San	Db	DbVU1146	14,85	74,31	5,73	8,96	5,72	2,85
<i>sera matou</i>	CVS	VU	Tan	Db	DbVU1289	17,85	<u>79,83</u>	1,98	8,81	5,49	2,46
<i>navoup telouo</i>	CVS	VU	Ero	Db	DbVU1399	15,92	70,33	9,08	9,34	5,73	3,32
<i>bop nabongbong</i>	CVS	VU	Epi	Db	DbVU1529	12,42	74,67	7,96	7,98	5,53	2,80

	CVS	VU	Ary	Db	DbVU1622		68,04	6,69	<u>10,09</u>	6,03	<u>4,00</u>
	CVS	VU	Ary	Db	DbVU1642		72,98	<u>13,17</u>	5,83	2,61	2,12
	CVS	VU		Dcr	DcrVU001		<u>90,40</u>	1,20	5,00	2,17	<u>3,60</u>
	CVS	VU	Tan	Dcr	DcrVU749	32,59	86,00	2,60	8,10	2,34	1,40
<i>waelou lulu</i>	CVS	VU	Mal	Dcr	DcrVU1012	30,84	81,80	<u>4,30</u>	7,00	2,77	1,90
<i>six manis</i>	CVS	VU	Mar	Dcr	DcrVU1075	28,97	86,00	1,30	8,30	2,85	2,10
<i>waelou meliang</i>	CVS	VU	Ero	Dcr	DcrVU1385a	33,65	83,70	1,70	7,80	2,86	1,90
<i>waelou meliang</i>	CVS	VU	Ero	Dcr	DcrVU1385b	33,29	84,78	1,09	7,53	<u>3,88</u>	1,68
	CVS	VU		De	DeVU624		69,32	10,58	5,81	3,21	1,91
	CVS	VU		De	DeVU625	22,99	67,70	<u>18,30</u>	5,70	2,50	2,40
	CVS	VU		De	DeVU629		63,80	13,06	9,01	<u>4,25</u>	<u>3,41</u>
	CVS	VU		De	DeVU665		77,38	9,87	6,27	2,54	2,01
	CVS	VU		De	DeVU708		72,11	12,56	7,19	3,59	2,23
	CVS	VU		De	DeVU803		71,90	12,60	6,10	<u>4,03</u>	2,10
<i>suru siho</i>	CVS	VU	Mal	De	DeVU1072		74,79	9,14	7,23	3,75	1,98
<i>tawa kara</i>	CVS	VU	San	De	DeVU1179		<u>78,66</u>	7,61	6,52	3,86	2,09
<i>koleiaviar</i>	CVS	VU	Tan	De	DeVU1324		74,25	8,71	8,17	3,97	2,04
<i>ndravrouk</i>	CVS	VU	Mka	De	DeVU1450	21,36	61,20	<u>15,20</u>	<u>11,10</u>	2,68	2,70
<i>mpop</i>	CVS	VU	Mal	De	DeVU1488	24,36	<u>79,90</u>	6,40	6,90	3,02	2,30
<i>toro ioup</i>	CVS	VU	Epi	De	DeVU1530	21,82	76,30	10,30	<u>10,90</u>	3,24	2,00
<i>toro ioup</i>	CVS	VU	Epi	De	DeVU1584	21,85	71,60	<u>16,50</u>	7,10	3,97	0,10
	CVS	VU	Ary	De	DeVU1670		75,74	7,22	7,31	3,11	1,89
<i>imbo horo</i>	CVS	VU	Mal	Dp	DpVU1039		64,17	3,48	13,56	<u>6,84</u>	<u>4,57</u>
<i>rapor lilil</i>	CVS	VU	Mka	Dp	DpVU1436	17,59	73,18	<u>6,09</u>	10,57	5,89	2,49
<i>nasghan iwé</i>	CVS	VU	Van	Dp	DpVU2010		73,03	3,16	13,15	5,55	2,51
	CVS	VU		Dn	DnVU001		89,20	0,50	6,00	2,58	1,80
<i>suma</i>	CVS	VU	San	Dn	DnVU3000	43,85	90,30	<u>3,90</u>	4,40	1,58	1,40
<i>net</i>	CVS	VU	San	Dn	DnVU3001		82,99	0,88	<u>10,31</u>	<u>2,92</u>	1,62
<i>buseram</i>	CVS	VU	San	Dn	DnVU3004		88,29	0,46	5,34	2,15	1,75
	CVS	VU		Dspp	DsppVU001		82,90	1,60	6,30	3,85	1,80
	CVS	VU		Dspp	DsppVU809	33,53	81,10	<u>3,30</u>	7,20	<u>4,65</u>	<u>2,20</u>
<i>nouissa</i>	CVS	VU	San	Dspp	DsppVU3002	33,23	<u>88,40</u>	0,70	5,20	3,46	1,80
	CVS	VU		Dtv	DtvVU001		<u>85,20</u>	<u>2,20</u>	7,00	2,86	1,90
	CVS	VU		Dtv	DtvVU621		82,81	0,60	9,68	4,32	<u>3,46</u>
<i>artawa</i>	CVS	VU	Mal	Dtv	DtvVU1033		79,03	<u>2,47</u>	9,22	4,41	2,24
<i>marok en tso</i>	CVS	VU	Ero	Dtv	DtvVU1355		77,82	1,74	<u>13,86</u>	3,98	1,98
<i>laklak</i>	CVS	VU	Mka	Dtv	DtvVU1452		80,68	1,25	9,56	4,21	2,17
<i>raouléwo</i>	CVS	VU	Ary	Dtv	DtvVU1652		82,72	0,94	9,14	3,21	2,40
	CVS	VU		Dtv	DtvVU1988		83,00	1,25	8,96	3,49	2,26
<i>nihnal devet woman</i>	CVS	VU		Dtv	DtvVU1921F		83,97	0,68	7,96	<u>4,84</u>	1,47
<i>nihnal devet man</i>	CVS	VU		Dtv	DtvVU1921M		81,77	1,78	7,62	3,94	1,95
	CVS	VU		Ib	IbVU71	19,73	<u>81,13</u>	1,49	4,29	3,58	4,07
	CVS	VU		Ib	IbVU78	19,34	70,61	6,17	<u>7,47</u>	3,05	3,51
	CVS	VU		Ib	IbVU83		68,71	10,28	5,66	3,20	3,45
	CVS	VU		Ib	IbVU104	19,67	69,98	6,65	6,33	3,67	5,76
	CVS	VU		Ib	IbVU110	26,50	<u>77,01</u>	8,59	4,75	2,51	2,95
	CVS	VU		Ib	IbVU120	33,48	<u>78,51</u>	10,27	3,90	2,32	4,27
	CVS	VU		Ib	IbVU124		65,61	8,69	6,25	4,18	4,49
	CVS	VU		Ib	IbVU130	26,68	<u>77,88</u>	10,45	4,80	4,03	5,21
	CVS	VU		Ib	IbVU133	25,79	58,87	12,24	<u>8,06</u>	<u>4,56</u>	<u>6,31</u>
	CVS	VU		Ib	IbVU139		67,17	8,24	<u>7,70</u>	3,49	5,23
	CVS	VU		Ib	IbVU140		67,95	8,08	5,54	<u>4,75</u>	3,27
	CVS	VU		Ib	IbVU142	28,84	<u>79,09</u>	8,58	3,92	3,85	3,63
	CVS	VU		Ib	IbVU143	23,77	<u>76,43</u>	11,31	4,73	3,67	3,62

lokol wanaeti
 peavut
 waet tri

CVS	VU		Ib	IbVU144	29,62	<u>77,48</u>	12,69	4,30	3,43	4,55
CVS	VU		Ib	IbVU147	15,13	67,64	11,54	6,26	2,52	4,56
CVS	VU		Ib	IbVU156	18,21	65,14	14,10	6,87	4,21	5,17
CVS	VU		Ib	IbVU157	18,10	74,86	3,06	6,98	3,98	3,39
CVS	VU		Ib	IbVU161	25,67	73,67	4,63	6,40	3,54	4,43
CVS	VU		Ib	IbVU162	22,43	<u>77,56</u>	2,08	5,99	3,45	4,17
CVS	VU		Ib	IbVU165	18,36	61,74	13,00	<u>7,44</u>	3,48	4,42
CVS	VU		Ib	IbVU171	18,41	70,34	9,55	4,18	3,17	3,30
CVS	VU		Ib	IbVU172	28,17	74,90	11,18	4,11	3,56	4,12
CVS	VU		Ib	IbVU180	27,15	68,17	10,60	6,61	3,32	3,40
CVS	VU	San	Ib	IbVU1165	27,33	71,72	10,87	3,57	3,79	4,35
CVS	VU	Mka	Ib	IbVU1433	23,31	67,02	<u>20,67</u>	<u>7,15</u>	4,21	3,87
CVS	VU	Abe	Ib	IbVU1879	27,40	<u>76,04</u>	10,40	4,87	3,12	4,43
CVS	VU		Ib	IbVUBankis	30,81	<u>77,10</u>	8,90	6,87	3,36	4,07
CVS	VU		Ib	IbVUChap28	23,03	73,03	6,13	6,55	3,13	3,21
CVS	VU		Ib	IbVUGV129	25,13	70,00	10,30	6,45	2,81	2,84
CVS	VU		Ib	IbVUPLY18		68,10	10,87	6,99	2,82	3,40
CVS	VU		Ib	IbVUPLY20a	27,99	74,54	12,03	4,70	3,31	3,87
CVS	VU		Ib	IbVUPLY20b	29,07	64,34	11,48	<u>7,89</u>	3,65	<u>6,40</u>
CVS	VU		Ib	IbVURV30a	25,37	70,06	17,10	4,31	<u>4,37</u>	3,75
CVS	VU		Ib	IbVURV30b	19,54	56,66	<u>15,25</u>	<u>10,20</u>	<u>4,75</u>	4,20
CVS	VU		Ib	IbVUSI226	22,08	68,91	9,81	<u>7,68</u>	3,64	3,49
CVS	VU		Ib	IbVUTIB042		67,71	13,52	6,21	2,79	3,64
CVS	VU		Ib	IbVUTIB232		73,77	6,06	5,73	3,38	3,54
HYB			Ib	IbHYB501		61,94	13,15	<u>8,37</u>	3,21	4,88
HYB			Ib	IbHYB502		68,30	8,03	5,06	3,68	<u>7,03</u>
HYB			Ib	IbHYB503		75,42	6,86	5,39	3,88	4,07
HYB			Ib	IbHYB504		<u>78,29</u>	2,59	5,84	3,45	3,12
HYB			Ib	IbHYB505		69,62	8,13	5,47	3,87	3,53
HYB			Ib	IbHYB506		67,18	7,38	5,29	3,39	<u>6,91</u>
HYB			Ib	IbHYB507		65,70	10,53	4,25	3,26	<u>9,23</u>
HYB			Ib	IbHYB508		<u>77,70</u>	3,99	6,90	2,71	3,82
HYB			Ib	IbHYB509		70,17	11,19	5,30	2,96	2,66
HYB			Ib	IbHYB510		73,05	9,15	<u>8,54</u>	3,99	4,11
HYB			Ib	IbHYB511		73,40	3,28	5,81	2,88	4,48
HYB			Ib	IbHYB512		69,06	8,51	4,54	2,52	<u>7,29</u>
HYB			Ib	IbHYB513		64,87	8,33	<u>8,21</u>	3,57	<u>7,06</u>
HYB			Ib	IbHYB514		68,74	7,45	6,47	<u>8,22</u>	3,71
HYB			Ib	IbHYB515		67,16	10,42	6,93	3,12	3,08
HYB			Ib	IbHYB516		61,63	11,41	<u>7,82</u>	<u>5,83</u>	4,03
HYB			Ib	IbHYB517		68,04	6,38	<u>7,31</u>	3,37	4,71
HYB			Ib	IbHYB519		73,11	5,37	<u>7,26</u>	3,23	3,34
HYB			Ib	IbHYB520		71,22	4,90	<u>7,85</u>	3,15	2,98
HYB			Ib	IbHYB521		63,73	12,10	<u>7,07</u>	3,77	3,77
HYB			Ib	IbHYB522		68,67	8,60	6,09	3,11	3,75
HYB			Ib	IbHYB523		71,26	5,63	5,76	3,56	3,62
HYB			Ib	IbHYB524		65,48	9,84	5,74	3,02	<u>7,74</u>
HYB			Ib	IbHYB525		72,96	5,79	4,89	3,31	<u>7,82</u>
HYB			Ib	IbHYB526		69,03	5,70	5,84	3,72	<u>9,40</u>
HYB			Ib	IbHYB527		74,11	4,67	5,19	3,23	<u>14,02</u>
HYB			Ib	IbHYB528		66,63	8,64	5,14	3,13	<u>13,39</u>
HYB			Ib	IbHYB529		69,29	8,34	6,14	3,64	3,43
HYB			Ib	IbHYB530		69,55	8,43	4,97	2,94	3,71
HYB			Ib	IbHYB531		71,43	6,82	6,28	2,84	4,49

HYB	Ib	IbHYB532	67,87	9,50	5,05	3,61	4,09
HYB	Ib	IbHYB533	70,84	10,04	6,61	<u>4,84</u>	<u>7,05</u>
HYB	Ib	IbHYB534	70,79	10,36	4,73	3,19	3,76
HYB	Ib	IbHYB535	62,78	12,49	5,71	<u>4,56</u>	4,92
HYB	Ib	IbHYB536	73,46	5,70	5,95	3,34	4,24
HYB	Ib	IbHYB537	71,75	3,95	6,39	3,80	4,82
HYB	Ib	IbHYB538	73,35	4,43	5,72	3,49	4,35
HYB	Ib	IbHYB539	<u>76,67</u>	5,97	6,16	2,67	2,56
HYB	Ib	IbHYB540	68,62	6,51	<u>8,29</u>	3,80	3,04
HYB	Ib	IbHYB541	64,59	9,15	5,90	3,38	<u>6,03</u>
HYB	Ib	IbHYB542	59,93	10,60	<u>9,97</u>	4,12	5,47
HYB	Ib	IbHYB543	62,39	10,30	6,03	<u>4,45</u>	<u>6,70</u>
HYB	Ib	IbHYB544	70,40	6,56	5,60	3,06	4,88
HYB	Ib	IbHYB545	71,70	6,94	5,41	2,94	<u>7,38</u>
HYB	Ib	IbHYB546	65,55	9,29	6,32	3,21	4,87
HYB	Ib	IbHYB547	73,29	6,82	5,26	2,98	5,64
HYB	Ib	IbHYB548	72,79	6,69	6,17	2,97	3,87
HYB	Ib	IbHYB549	71,98	7,14	4,68	2,78	2,95
HYB	Ib	IbHYB550	<u>75,93</u>	6,64	4,81	2,83	2,92
HYB	Ib	IbHYB551	65,71	10,38	4,68	3,32	5,04
HYB	Ib	IbHYB552	<u>76,51</u>	5,73	4,74	2,83	3,49
HYB	Ib	IbHYB553	71,89	10,04	5,41	3,22	5,05
HYB	Ib	IbHYB554	72,47	9,90	4,56	3,21	3,75
HYB	Ib	IbHYB555	71,87	7,76	5,89	2,99	3,26
HYB	Ib	IbHYB556	<u>79,29</u>	5,68	3,63	2,49	3,48
HYB	Ib	IbHYB557	<u>75,95</u>	6,81	4,12	2,58	3,46
HYB	Ib	IbHYB558	<u>76,21</u>	4,56	4,12	2,54	2,87
HYB	Ib	IbHYB560	<u>80,99</u>	2,58	4,83	2,59	2,66
HYB	Ib	IbHYB561	73,21	5,16	6,52	3,05	3,68
HYB	Ib	IbHYB562	72,61	4,15	5,55	3,35	3,77
HYB	Ib	IbHYB563	75,28	4,61	5,46	3,24	3,29
HYB	Ib	IbHYB565	71,44	6,15	6,12	3,94	3,32
HYB	Ib	IbHYB566	70,96	6,38	5,20	3,62	3,61
HYB	Ib	IbHYB568	68,38	7,95	5,02	4,08	4,62
HYB	Ib	IbHYB570	65,84	8,68	<u>7,74</u>	4,03	4,19
HYB	Ib	IbHYB572	69,68	6,03	6,29	3,59	4,16
HYB	Ib	IbHYB573	74,82	4,19	5,17	3,62	3,81
HYB	Ib	IbHYB579	<u>76,21</u>	5,51	3,13	2,96	3,21
HYB	Ib	IbHYB580	<u>76,34</u>	3,52	5,44	3,16	3,56
HYB	Ib	IbHYB581	75,09	4,90	4,51	3,18	3,16
HYB	Ib	IbHYB582	<u>83,83</u>	3,03	3,72	2,53	3,15
HYB	Ib	IbHYB585	74,39	5,15	5,20	<u>6,48</u>	3,66
HYB	Ib	IbHYB587	74,23	6,17	5,61	3,19	2,97
HYB	Ib	IbHYB591	<u>77,17</u>	3,11	5,23	3,46	3,55
HYB	Ib	IbHYB593	74,59	4,46	6,89	3,48	3,20
HYB	Ib	IbHYB595	<u>81,36</u>	4,56	3,58	2,46	<u>8,28</u>
HYB	Ib	IbHYB596	<u>79,83</u>	2,82	4,45	2,06	2,93
HYB	Ib	IbHYB597	74,42	6,59	6,07	3,15	3,40
HYB	Ib	IbHYB599	<u>80,59</u>	3,40	2,67	2,67	3,60
HYB	Ib	IbHYB605	60,09	<u>17,38</u>	5,30	3,55	4,09
HYB	Ib	IbHYB608	58,78	<u>15,63</u>	<u>7,71</u>	3,71	3,47
HYB	Ib	IbHYB609	68,09	13,40	6,22	2,88	2,88
HYB	Ib	IbHYB610	53,68	<u>25,29</u>	<u>7,56</u>	<u>5,61</u>	4,01
HYB	Ib	IbHYB611	67,88	13,53	4,53	3,47	3,87

HYB	Ib	IbHYB612	68,37	12,97	5,98	2,94	4,04
HYB	Ib	IbHYB613	60,60	<u>16,31</u>	6,06	3,70	4,71
HYB	Ib	IbHYB615	72,73	9,91	5,22	2,71	2,73
HYB	Ib	IbHYB616	64,76	<u>15,70</u>	6,04	<u>5,73</u>	3,30
HYB	Ib	IbHYB617	54,41	<u>16,55</u>	<u>7,31</u>	<u>5,69</u>	<u>12,56</u>
HYB	Ib	IbHYB618	72,36	10,62	5,60	3,03	3,30
HYB	Ib	IbHYB619	74,42	10,47	5,98	2,96	3,89
HYB	Ib	IbHYB620	65,22	12,44	6,32	3,50	3,10
HYB	Ib	IbHYB622	63,07	13,90	4,69	3,49	4,16
HYB	Ib	IbHYB623	72,97	10,31	5,48	2,58	4,19
HYB	Ib	IbHYB624	68,49	11,60	5,63	2,91	3,46
HYB	Ib	IbHYB625	66,71	<u>20,38</u>	4,96	2,74	2,77
HYB	Ib	IbHYB626	66,89	<u>18,55</u>	5,30	3,30	2,99
HYB	Ib	IbHYB627	57,02	<u>19,43</u>	4,99	3,78	4,21
HYB	Ib	IbHYB628	69,75	12,03	5,14	2,63	2,91
HYB	Ib	IbHYB629	66,53	12,79	6,21	3,17	5,45
HYB	Ib	IbHYB630	58,83	<u>20,32</u>	6,88	3,75	4,34
HYB	Ib	IbHYB631	57,25	<u>19,19</u>	6,10	3,85	3,98
HYB	Ib	IbHYB632	63,47	<u>20,30</u>	6,35	<u>4,50</u>	3,63
HYB	Ib	IbHYB633	58,45	<u>23,13</u>	6,44	3,99	3,74
HYB	Ib	IbHYB634	65,56	<u>17,52</u>	4,88	2,85	4,99
HYB	Ib	IbHYB635	62,16	<u>16,91</u>	5,37	3,32	3,51
HYB	Ib	IbHYB635	66,85	<u>17,64</u>	5,44	3,43	2,66
HYB	Ib	IbHYB640	67,33	12,19	5,78	3,52	4,08
HYB	Ib	IbHYB641	73,38	9,19	4,27	2,81	2,61
HYB	Ib	IbHYB642	64,42	<u>17,97</u>	3,49	2,54	3,26
HYB	Ib	IbHYB643	73,78	10,59	3,69	2,56	2,83
HYB	Ib	IbHYB644	66,16	13,68	<u>7,33</u>	2,78	2,82
HYB	Ib	IbHYB645	61,99	<u>17,82</u>	<u>7,60</u>	<u>5,36</u>	3,04
HYB	Ib	IbHYB646	67,22	12,40	<u>7,70</u>	3,19	3,23
HYB	Ib	IbHYB648	73,33	7,31	6,65	3,05	3,09
HYB	Ib	IbHYB649	72,16	6,66	5,40	3,41	2,66
HYB	Ib	IbHYB650	57,48	<u>20,85</u>	6,35	4,30	<u>5,95</u>
HYB	Ib	IbHYB651	53,30	<u>23,30</u>	5,73	5,54	5,22
HYB	Ib	IbHYB652	66,11	<u>18,25</u>	4,44	3,49	3,23
HYB	Ib	IbHYB653	71,84	10,63	6,02	3,49	4,00
HYB	Ib	IbHYB654	73,88	9,09	5,29	3,05	3,95
HYB	Ib	IbHYB655	69,67	9,42	6,05	4,02	3,42
HYB	Ib	IbHYB656	65,77	13,66	5,55	4,10	3,35
HYB	Ib	IbHYB657	53,89	<u>18,00</u>	<u>9,00</u>	<u>4,86</u>	3,65
HYB	Ib	IbHYB658	74,42	12,63	3,85	2,31	3,03
HYB	Ib	IbHYB659	<u>77,31</u>	9,04	4,28	2,17	2,39
HYB	Ib	IbHYB660	62,79	<u>15,12</u>	6,66	4,11	3,26
HYB	Ib	IbHYB661	67,31	14,24	5,82	3,49	2,82
HYB	Ib	IbHYB662	69,37	10,88	6,56	4,32	3,37
HYB	Ib	IbHYB663	65,96	14,43	5,21	3,18	4,23
HYB	Ib	IbHYB664	69,18	10,81	6,10	3,72	2,98
HYB	Ib	IbHYB665	59,69	<u>19,62</u>	5,72	3,17	3,68
HYB	Ib	IbHYB666	68,90	11,92	<u>8,54</u>	2,92	5,17
HYB	Ib	IbHYB667	68,65	11,93	6,06	2,83	3,46
HYB	Ib	IbHYB668	69,80	11,12	6,55	3,19	3,35
HYB	Ib	IbHYB670	68,35	9,05	6,08	<u>4,89</u>	2,71
HYB	Ib	IbHYB671	72,84	9,21	6,03	<u>6,48</u>	3,33
HYB	Ib	IbHYB672	70,72	13,87	5,62	2,86	3,07

				HYB		Ib	IbHYB673		69,56	<u>16,88</u>	6,46	<u>4,52</u>	<u>6,23</u>	
				HYB		Ib	IbHYB674		67,86	<u>18,05</u>	<u>8,51</u>	2,33	3,29	
				HYB		Ib	IbHYB675		66,27	14,29	6,57	3,61	3,57	
				HYB		Ib	IbHYB677		<u>75,77</u>	9,86	5,75	3,01	3,94	
				HYB		Ib	IbHYB678		64,05	13,25	6,23	3,31	3,68	
				HYB		Ib	IbHYB679		70,55	11,89	5,57	2,81	4,19	
				HYB		Ib	IbHYB680		<u>68,15</u>	13,42	5,88	4,05	4,05	
				HYB		Ib	IbHYB681		73,79	5,78	5,31	3,22	3,30	
				CVS	VU	Me	MeVU06	28,08	79,95	<u>6,28</u>	3,08	<u>3,53</u>	2,94	
				CVS	VU	Me	MeVU14	38,04	86,74	3,27	2,40	2,47	3,72	
				CVS	VU	Me	MeVU17	32,96	83,73	5,43	2,37	2,85	4,15	
				CVS	VU	Me	MeVU19	26,66	79,84	5,35	3,16	<u>3,10</u>	4,31	
				CVS	VU	Me	MeVU38	33,15	83,59	5,20	1,82	2,83	3,73	
				CVS	VU	Me	MeVU40	33,06	<u>89,60</u>	1,52	2,32	2,60	3,23	
				CVS	VU	Me	MeVU43	38,05	<u>90,39</u>	2,94	1,68	2,03	<u>5,43</u>	
				CVS	VU	Me	MeVU47	37,04	88,11	4,35	2,44	2,56	<u>6,50</u>	
				CVS	VU	Me	MeVU49	33,06	87,63	3,10	2,53	2,43	<u>4,70</u>	
kari				CVS	VU	Mal	Me	MeVU1055	26,77	<u>91,21</u>	2,17	1,69	2,24	3,53
bisroe				CVS	VU	Mal	Me	MeVU1057	35,85	<u>89,25</u>	2,75	2,22	2,33	3,07
ramatsino				CVS	VU	San	Me	MeVU1138	36,21	86,27	4,30	2,70	2,04	3,24
ramatsino kried				CVS	VU	San	Me	MeVU1138g	36,05	86,56	4,24	2,62	2,32	3,18
namba tu				CVS	VU	San	Me	MeVU1139		85,68	4,56	2,63	2,69	3,71
tavuo				CVS	VU	San	Me	MeVU1140	31,21	88,61	4,35	1,69	2,06	4,30
manioc ralava				CVS	VU	San	Me	MeVU1141 ^(3x)	34,21	83,75	5,97	2,85	2,71	3,31
matsohorten				CVS	VU	San	Me	MeVU1444	27,92	86,51	4,62	2,11	2,42	3,17
tamatsina				CVS	VU	San	Me	MeVU1445	34,10	<u>89,77</u>	2,81	3,08	2,42	3,34
raeiri				CVS	VU	San	Me	MeVU1151	19,62	82,51	<u>6,98</u>	1,71	<u>2,93</u>	3,88
ila				CVS	VU	San	Me	MeVU1152	33,18	88,88	2,88	2,48	2,24	2,55
tanna				CVS	VU	San	Me	MeVU1160	34,41	85,79	4,83	1,33	2,50	3,39
lorum				CVS	VU	San	Me	MeVU1161	35,85	87,82	3,60	2,37	2,47	<u>6,98</u>
takara				CVS	VU	San	Me	MeVU1183	24,08	83,69	<u>6,11</u>	1,69	<u>3,19</u>	2,56
tri andret				CVS	VU	San	Me	MeVU1299	34,56	85,67	3,96	1,87	2,84	3,08
belli				CVS	VU	Tan	Me	MeVU1309	39,48	87,30	4,76	2,64	1,59	<u>4,68</u>
kari				CVS	VU	Tan	Me	MeVU1310	39,22	87,13	3,86	1,95	2,39	<u>4,79</u>
plastic tongoa				CVS	VU	Tan	Me	MeVU1354	37,08	87,99	3,14	1,74	2,61	3,19
noulngon mori				CVS	VU	Ero	Me	MeVU1357	23,59	86,19	4,19	3,06	2,31	2,90
kari				CVS	VU	Ero	Me	MeVU1390	31,65	86,94	<u>10,12</u>	2,65	2,45	2,67
narsaed riva				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1414	37,17	<u>89,78</u>	2,47	1,56	2,58	3,97
napound wes				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1424	32,51	83,74	5,42	<u>3,62</u>	2,18	3,12
anytime				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1428	40,30	<u>89,62</u>	3,28	2,19	1,45	1,80
mahe				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1469	35,35	83,35	4,32	2,89	2,35	3,78
atchin				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1470	39,07	<u>90,75</u>	2,90	1,96	1,87	2,69
auloua				CVS	VU	Mka	Me	MeVU1473	36,43	88,69	2,80	1,89	2,26	2,16
coten manioko				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1517	11,04	86,22	2,77	2,47	2,54	2,87
tongoa				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1520	35,73	<u>90,00</u>	2,80	2,11	2,45	2,31
manioc akrikaltja				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1521	32,59	86,20	4,73	2,99	1,79	2,83
manioc salomon				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1523	33,27	87,43	4,04	2,00	2,45	2,07
mahioko borouwo				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1579	37,89	<u>90,24</u>	4,09	1,70	2,13	4,03
one peny				CVS	VU	Epi	Me	MeVU1585	33,14	84,32	5,06	<u>5,61</u>	2,16	<u>6,16</u>
kari				CVS	VU	Ary	Me	MeVU1609	33,88	85,79	4,03	<u>3,93</u>	2,01	2,25
vila				CVS	VU	Ary	Me	MeVU1610	34,50	87,35	2,92	2,37	2,52	2,50
wes				CVS	VU	Ary	Me	MeVU1611	33,77	86,17	4,82	3,35	2,05	3,39
kaé malatin				CVS	VU	Ary	Me	MeVU1667 ^(3x)	31,91	86,70	3,85	4,26	2,08	2,14

	CVS	VU	Ary	Me	MeVU1672	39,53	<u>89,64</u>	3,94	2,68	1,67	1,73
<i>erakor</i>	CVS	VU	Ary	Me	MeVU1681	34,17	87,51	3,15	3,16	2,49	<u>4,86</u>
<i>ielo manio</i>	CVS	VU	Pen	Me	MeVU1771	31,23	86,26	3,82	<u>3,58</u>	2,53	2,15
<i>manioc wan</i>	CVS	VU	Pen	Me	MeVU1781	28,33	87,46	4,66	3,18	<u>3,05</u>	2,76
	CVS	VU	Pen	Me	MeVU1809	32,39	85,26	3,88	2,39	2,69	2,77
<i>mwetari</i>	CVS	VU	Pen	Me	MeVU1843	37,42	88,83	3,04	1,89	2,54	3,12
<i>kari</i>	CVS	VU	Abe	Me	MeVU1864	28,42	83,68	4,74	<u>4,58</u>	2,71	2,41
<i>kari tu</i>	CVS	VU	Abe	Me	MeVU1880	30,55	85,10	<u>6,12</u>	2,58	2,87	3,14
<i>raes</i>	CVS	VU	Abe	Me	MeVU1918 ^(3x)	27,65	80,53	<u>7,34</u>	<u>4,20</u>	<u>2,94</u>	3,04
<i>koue koue mpae mpae</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU1991	31,03	82,25	5,90	2,29	<u>3,00</u>	2,51
<i>missis taman</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU2011	29,48	83,63	<u>8,57</u>	1,97	<u>3,08</u>	2,64
<i>missis lokouven</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU2012	31,97	81,95	<u>8,78</u>	2,69	<u>2,94</u>	3,33
<i>betongmoat</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU2013	35,39	88,16	4,30	1,88	2,53	4,42
<i>dik</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU2014	44,02	<u>89,21</u>	4,24	2,10	1,66	3,38
<i>fijian</i>	CVS	VU	Van	Me	MeVU2015	37,23	86,85	4,24	2,15	2,36	2,21
<i>pikiniki ambrym</i>	CVS	VU	Ary	Me	MeVUAryPik	39,61	86,45	4,22	<u>3,90</u>	1,24	2,39
<i>pikinini biskit</i>	HYB			Me	MeVUBiC2	31,45	85,25	5,49	3,09	<u>3,21</u>	2,77
<i>sid tanna</i>	HYB			Me	MeVUTanC2	37,40	87,54	4,45	3,18	2,71	4,20
	CVS	VU		Xs	XsVU1	24,99	84,84	2,61	4,34	<u>5,36</u>	3,02
	CVS	VU		Xs	XsVU2	43,09	<u>91,49</u>	1,99	3,68	2,16	1,73
	CVS	VU		Xs	XsVU3	25,79	82,26	2,47	4,74	<u>5,14</u>	<u>6,22</u>
	CVS	VU		Xs	XsVU4	37,99	87,03	1,97	4,81	2,93	<u>5,87</u>
	CVS	VU		Xs	XsVU5	40,14	88,10	1,45	5,00	2,43	2,34
	CVS	VU		Xs	XsVU6	40,97	88,71	1,48	<u>6,17</u>	2,53	2,17
	CVS	VU		Xs	XsVU7	32,42	86,63	1,97	4,66	3,29	2,44
	CVS	VU		Xs	XsVU8	39,91	79,85	2,55	5,05	2,78	3,60
	CVS	VU		Xs	XsVU9	29,73	87,29	<u>3,15</u>	5,14	3,77	2,57

⁽¹⁾ Type : cultivar (CVS), nouvel hybride en cours d'évaluation (HYB)

⁽²⁾ Pays : Inde (IND), Indonésie (ID), Malaisie (MY), Philippines (PH), Thaïlande (TH), Viet-Nam (VN), Vanouatou (VU)

⁽³⁾ Ile d'origine : Ambaé (Abe), Ambrym (Ary), Efaté (Efa), Epi (Epi), Erromango (Ero), Malo (Mal), Malicollo (Mka), Pentecôte (Pen), Santo (San), Tanna (Tan), Tongariki (Ton), Vanoua Lava (Van)

⁽⁴⁾ Espèce : *C. esculenta* (Ce), *D. alata* (Da), *D. bulbifera* (Db), *D. cayenensis-rotundata* (Dcr), *D. esculenta* (De), *D. nummularia* (Dn), *D. pentaphylla* (Dp), *D. spp.* (Dspp), *D. transversa* (Dtv), *I. batatas* (Ib), *M. esculenta* (Me), *X. sagittifolium* (Xs)

⁽⁵⁾ Teneur exprimée en % de matière fraîche

⁽⁶⁾ Teneur exprimée en % de matière sèche

^(3x) Géotypes triploïdes (Sardos *et al.*, 2008)

Les teneurs soulignées correspondent aux hors-types (*outliers*), c'est à dire les valeurs supérieures à la somme (moyenne + écart-type).

Annexe 2 : Analyses des caroténoïdes de 153 génotypes de RT

Nom Vernaculaire	Pays d'origine ⁽¹⁾	Ile d'origine ⁽²⁾	Identification de l'échantillon ⁽³⁾	lutéine ⁽⁴⁾	zéaxanthine ⁽⁴⁾	phytoène ⁽⁴⁾	13-cis-β-carotène ^{(4) *}	all-trans-α-carotène ⁽⁴⁾	all-trans-β-carotène ⁽⁴⁾	9-cis-β-carotène ^{(4) *}	neurosporene ⁽⁴⁾	Couleur du tubercule ⁽⁵⁾
	VU		Am5	15,18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	1
	VU		Am6	11,69	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	1
	VU		Am8	5,46	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	1
<i>tarapotan</i>	VU	San	Ce1191	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	6
<i>muleroron</i>	VU	San	Ce1196	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	5
<i>singom</i>	VU	Tan	Ce1274	4,25	tr.	n.d.	tr.	n.d.	6,90	tr.	n.d.	2
<i>biak nawé...</i>	VU	Epi	Ce1558	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	11,63	tr.	n.d.	5
<i>aboï</i>	VU	Ary	Ce1656	tr.	tr.	tr.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	5
<i>tsinon témémé</i>	VU	Pen	Ce1697	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	4
<i>clément</i>	VU	Pen	Ce1706	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	9,07	tr.	n.d.	7
<i>bwet métakas</i>	VU	Pen	Ce1713	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	18,02	tr.	n.d.	3
<i>lokonaoundi</i>	VU	Abe	Ce1813	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	17,89	tr.	n.d.	3
<i>bouléi...</i>	VU	Abe	Ce1888	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	4
<i>warogaï tagaro</i>	VU	Abe	Ce1895	7,81	tr.	n.d.	tr.	n.d.	13,39	tr.	n.d.	12
<i>worogaï kété</i>	VU	Abe	Ce1914	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	17
	ID		CeID 280	tr.	tr.	n.d.	0,01	n.d.	27,10	tr.	n.d.	2
	ID		CeID 83	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	24,27	tr.	n.d.	2
	TH		CeTH 1	tr.	tr.	n.d.	0,04	n.d.	<u>146,09</u>	0,02	n.d.	7
<i>pora lo mapuro</i>	VU	San	Ce202	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	7
<i>pora loma puro</i>	VU	Mka	Ce203	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	7
<i>pet rara</i>	VU	Mka	Ce210	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	6
<i>james</i>	VU	San	Ce268	5,29	tr.	n.d.	tr.	n.d.	11,72	tr.	n.d.	6
<i>majina</i>	VU	San	Ce280	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	13,73	tr.	n.d.	2
<i>samsin ret...</i>	VU	Pen	Ce37	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	10,01	tr.	n.d.	7
	VU	Pen	Ce59	tr.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	13,93	tr.	n.d.	1
<i>arume</i>	VU	San	Ce74	<u>11,41</u>	tr.	n.d.	tr.	n.d.	15,41	tr.	n.d.	37
<i>roroï tas</i>	VU	San	Ce124	tr.	n.d.	n.d.	0,01	n.d.	22,46	0,01	n.d.	3
<i>tumas ambrym</i>	VU	Mal	Da1005	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	8
<i>viabulu</i>	VU	Mal	Da1022	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	8
<i>baloi boï</i>	VU	Mal	Da1042	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	5
<i>bebei</i>	VU	Mal	Da1045	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	4
<i>tarpotono</i>	VU	San	Da1181	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	8
<i>ross</i>	VU	Tan	Da1286	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	5
<i>nawanorik...</i>	VU	Tan	Da1316	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	7
<i>sinoua mièl</i>	VU	Mka	Da1447	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	6
<i>nil pareï</i>	VU	Mka	Da1484	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	1
<i>ravar rarh</i>	VU	Mka	Da1498	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	2
<i>nakraï perh...</i>	VU	Mka	Da1505	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	5
<i>viten tapili</i>	VU	Ary	Da1623	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	14,57	n.d.	n.d.	5
<i>nihna ichig...</i>	VU	Van	Da1986	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	16,09	n.d.	n.d.	4
<i>maravovo...</i>	VU	Van	Da1989	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	4
<i>salemanu waet</i>	VU		Da011	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	1
<i>vitibergbak</i>	VU		Da002	tr.	tr.	tr.	n.d.	n.d.	16,06	n.d.	n.d.	17
<i>bughi toa</i>	VU		Da373	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	8,35	n.d.	n.d.	17
<i>awe</i>	VU		Da407	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	71
<i>viripoa</i>	VU		Da485	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	4
<i>salemanu ret</i>	VU	Efa	DaSal R	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	4
	VU		Db620	29,29	n.d.	67,71	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2
<i>buewu reureu</i>	VU	Mal	Db1009	13,87	n.d.	216,42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	19,46	2
<i>...reureu susu</i>	VU	Mal	Db1011	27,96	n.d.	<u>488,21</u>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	7

<i>buewu koru...</i>	VU	Mal	Db1032	<u>63,90</u>	n.d.	157,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2
<i>pevu takar</i>	VU	San	Db1146	23,55	n.d.	369,07	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,01	7
<i>sera matou</i>	VU	Tan	Db1289	43,44	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	7
<i>sera ouless</i>	VU	Tan	Db1290	12,38	n.d.	158,93	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2
<i>navoup</i>	VU	Ero	Db1368	38,87	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2
<i>navoup nou...</i>	VU	Ero	Db1369	<u>67,86</u>	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	7
<i>navoup télouo</i>	VU	Ero	Db1399	38,80	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	1
<i>napow wes</i>	VU	Mka	Db1451	14,53	n.d.	280,59	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	20,90	2
<i>napow mièl</i>	VU	Mka	Db1487	41,33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,14	n.d.	n.d.	7
<i>...nabongbong</i>	VU	Epi	Db1529	30,86	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,58	n.d.	n.d.	7
<i>oinokon planté</i>	VU	Ary	Db1603	26,12	n.d.	248,33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2
<i>navoup melana</i>	VU	Ero	DbbAND19	113,40	tr.	254,28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	7
	VU		Dbb620	106,79	tr.	95,72	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2V
<i>buewu reureu</i>	VU	Mal	Dbb1009	80,71	n.d.	106,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2V7
<i>...reureu susu</i>	VU	Mal	Dbb1011	136,46	tr.	394,05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	7
<i>buewu koru...</i>	VU	Mal	Dbb1032	64,30	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2V
<i>pevu takar</i>	VU	San	Dbb1146	<u>146,45</u>	n.d.	<u>680,18</u>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	7
<i>sera matou</i>	VU	Tan	Dbb1289	<u>172,08</u>	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	2V7
<i>navoup</i>	VU	Ero	Dbb1368	94,38	n.d.	11,17	n.d.	n.d.	17,67	n.d.	tr.	7
<i>navoup nou...</i>	VU	Ero	Dbb1369	122,89	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	2V
<i>napow wes</i>	VU	Mka	Dbb1451	140,07	n.d.	164,71	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2V
<i>napow mièl</i>	VU	Mka	Dbb1487	71,14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	7
<i>...nabongbong</i>	VU	Epi	Dbb1529	51,15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5
<i>oinokon planté</i>	VU	Ary	Dbb1603	121,66	tr.	97,46	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	2V
	VU	Tan	Dcr749	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	10,15	n.d.	n.d.	2
<i>waelu lulu</i>	VU	Mal	Dcr1012	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	1
<i>wailou méliang</i>	VU	Ero	Dcr1385	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	n.d.	2
<i>wailou yellow</i>	VU	Ary	Dcr1689	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	n.d.	2
<i>suru wae-rave</i>	VU	Mal	De1028	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	4
<i>tawakara</i>	VU	San	De1179	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	6,25	tr.	n.d.	4
<i>tawa mulmulu</i>	VU	San	De1180	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,57	tr.	n.d.	7
<i>ouvleï télouo</i>	VU	Ero	De1401	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,28	tr.	n.d.	41
<i>ndravrouk</i>	VU	Mka	De1450	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	4
<i>parav uwiret</i>	VU	Mka	De1509	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	1
<i>parav mend pin</i>	VU	Mka	De1514	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	41
<i>toro batcha</i>	VU	Epi	De1544	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	4
<i>raman ately</i>	VU	Ary	De1642	tr.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	4,79	tr.	n.d.	4
<i>...boulmet niaï</i>	VU	Ary	De1691	tr.	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	41
<i>hipo</i>	VU	San	Dp1150	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	1
<i>télouo noup</i>	VU	Ero	Dp1384	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	1
<i>rapor lilil</i>	VU	Mka	Dp1436	n.d.	n.d.	18,61	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	tr.	1
	VU		Ib16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<u>12,564,91</u>	n.d.	n.d.	3
	VU		IbPLY020	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	VU		IbChap28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	17,26	n.d.	n.d.	14
	VU		IbRV30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,47	n.d.	n.d.	1
	VU		Ib59	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	26,68	n.d.	n.d.	24
	VU		Ib71	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<u>14,543,09</u>	n.d.	n.d.	3
	VU		Ib171	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1
	VU		Ib78	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	293,00	n.d.	n.d.	37
	VU		Ib104	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,58	n.d.	n.d.	14
	VU		Ib110	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,29	n.d.	n.d.	16
	VU		Ib120	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	<u>9,231,64</u>	n.d.	n.d.	3
	VU		IbGV129	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	83,35	n.d.	n.d.	24
	VU		Ib133	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	202,04	n.d.	n.d.	
	VU		Ib147	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,83	n.d.	n.d.	1
	VU		Ib156	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	832,78	n.d.	n.d.	237
	VU		Ib157	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	230,05	n.d.	n.d.	27
	VU		Ib159	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	<u>8,681,04</u>	n.d.	n.d.	3
	VU		Ib161	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,416,55	n.d.	n.d.	23
	VU		Ib162	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,21	n.d.	n.d.	1
	VU		Ib165	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,92	n.d.	n.d.	17

	VU		Ib180	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<u>9,226,72</u>	n.d.	n.d.	3
	VU		Ib183	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	35,03	n.d.	n.d.	2
	VU		IbSI226	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,323,98	n.d.	n.d.	26
<i>latsmoli</i>	VU	San	Ib1164	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,983,05	n.d.	n.d.	37
	VU	Tan	Ib1306	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	830,56	n.d.	n.d.	37
<i>blanche 2</i>	VU	Mka	Ib1432	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,80	n.d.	n.d.	1
<i>blanche 3</i>	VU	Mka	Ib1433	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	17
<i>kumala bom</i>	VU	Epi	Ib1531	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	175,79	n.d.	n.d.	2
<i>ral touto</i>	VU	Ary	Ib1665	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<u>7,651,15</u>	n.d.	n.d.	37
<i>kumala 2</i>	VU	Pen	Ib1745	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	458,20	n.d.	n.d.	16
<i>...woan manis</i>	VU	Abe	Ib1877	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	822,32	n.d.	n.d.	23
<i>daïtari</i>	VU	Abe	Ib1891	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	tr.	n.d.	n.d.	1
	VU	Van	Ibbank	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,025,74	n.d.	n.d.	23
	VU		Me7	n.d.	n.d.	19,80	134,46	n.d.	280,98	138,96	n.d.	2
	VU		Me8	n.d.	n.d.	tr.	117,00	n.d.	169,00	112,13	n.d.	2
	VU		Me17	4,85	n.d.	11,61	29,62	n.d.	53,43	28,30	n.d.	2
	VU		Me20	n.d.	n.d.	26,35	129,30	n.d.	269,60	131,05	n.d.	2
	VU		MeHyb31	n.d.	n.d.	<u>7032,38</u>	76,96	n.d.	126,31	79,90	n.d.	2
	VU		MeHyb32	n.d.	n.d.	tr.	<u>195,57</u>	n.d.	307,19	<u>189,11</u>	n.d.	2
<i>kari</i>	VU	Mal	Me1055	n.d.	n.d.	72,69	131,18	n.d.	276,93	137,64	n.d.	2
<i>tamatsina</i>	VU	San	Me1145	n.d.	n.d.	25,32	125,28	n.d.	260,99	124,62	n.d.	2
<i>raïri</i>	VU	San	Me1151	n.d.	n.d.	tr.	139,39	n.d.	228,38	144,11	n.d.	2
	VU		Me1155	n.d.	n.d.	28,46	136,76	n.d.	252,57	143,74	n.d.	2
<i>kari</i>	VU	Tan	Me1310	n.d.	n.d.	79,50	27,83	n.d.	154,50	28,46	n.d.	2
<i>noulngon mori</i>	VU	Ero	Me1357	n.d.	n.d.	tr.	93,06	n.d.	169,36	92,53	n.d.	2
<i>kari</i>	VU	Ero	Me1390	n.d.	n.d.	tr.	134,69	n.d.	197,42	137,45	n.d.	2
<i>naï tom poun</i>	VU	Ero	Me1391	tr.	n.d.	tr.	33,75	n.d.	51,25	29,75	n.d.	1
<i>napound wes</i>	VU	Mka	Me1424	tr.	n.d.	80,32	114,08	n.d.	231,40	130,50	n.d.	2
<i>kari mahioko</i>	VU	Epi	Me1519	n.d.	n.d.	tr.	123,75	n.d.	<u>490,00</u>	128,44	n.d.	2
<i>kari</i>	VU	Ary	Me1609	n.d.	n.d.	23,38	126,55	n.d.	237,37	125,56	n.d.	2
<i>yellow manio</i>	VU	Pen	Me1771	n.d.	n.d.	57,76	97,37	n.d.	190,73	95,28	n.d.	2
<i>kari</i>	VU	Abe	Me1864	n.d.	n.d.	68,15	143,72	n.d.	279,19	146,41	n.d.	2
<i>kari 2</i>	VU	Abe	Me1880	n.d.	n.d.	80,30	127,90	n.d.	279,41	156,54	n.d.	2
<i>maïok ngoï ngoï</i>	VU	Van	Me1955	tr.	n.d.	tr.	tr.	n.d.	14,13	tr.	n.d.	2
<i>kouï kouï...</i>	VU	Van	Me1991	n.d.	n.d.	tr.	150,28	n.d.	<u>343,84</u>	156,57	n.d.	2
	VU		Xs1	11,42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1
	VU		Xs3	<u>19,12</u>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4
	VU		Xs4	16,70	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4
	VU		Xs5	15,98	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1
	VU		Xs7	15,81	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4
	VU		Xs8	12,29	tr.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4
	VU		Xs9	15,56	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4
		min :		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		max :		172,08	tr.	7032,38	195,57	tr.	14543,09	189,11	20,90	

(1) Pays : Indonésie (ID), Thaïlande (TH), Vanouatou (VU)

(2) Ile d'origine : Ambaé (Abe), Ambrym (Ary), Epi (Epi), Erromango (Ero), Malo (Mal), Malicollo (Mka), Pentecôte (Pen), Santo (San), Tanna (Tan), Vanoua Lava (Van)

(3) Identification : *C. esculenta* (Ce), *D. alata* (Da), *D. bulbifera* (Db), *D. cayenensis-rotundata* (Dcr), *D. esculenta* (De), *D. nummularia* (Dn), *D. pentaphylla* (Dp), *D. spp.* (Dspp), *D. transversa* (Dtv), *I. batatas* (Ib), *M. esculenta* (Me), *X. sagittifolium* (Xs), Hybride (Hyb)

(4) Les valeurs sont exprimées en µg/100gMF, (n.d.) non détecté, (tr.) traces.

(5) Code pour la couleur : blanc (1), jaune (2), orange (3), rose (4), rouge (5), violet-rouge (6), violet-bleu (7), vert (V)

Rq : les codes à plusieurs caractères présentent plusieurs couleurs (ex : 2V7 = jaune, vert et violet-bleu)

Les teneurs soulignées correspondent aux hors-types (*outliers*), c'est à dire les valeurs supérieures à la somme (moyenne + écart-type).

Annexe 3 : Analyses des composés phénoliques de 134 géotypes de RT

Anthocyanes de *Dioscorea alata* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A13,03	A15,02	A25,94	A26,95	A27,98	A32,29	A35,29	A35,71	A38,59	Total
Mka1447	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mka1498	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VU11SalW	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VU485	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mka1484	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mall045	n.d.	n.d.	n.d.	0,064	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,064
Mall005	0,025	n.d.	n.d.	0,054	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,080
Mall042	n.d.	n.d.	0,175	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,175
VU02	n.d.	n.d.	0,269	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,269
San1181	n.d.	n.d.	0,259	n.d.	0,089	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,348
Tan1286	n.d.	n.d.	0,434	0,089	0,147	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,670
SalR	n.d.	n.d.	1,080	n.d.	0,262	0,161	0,097	0,136	0,027	1,761
Van1986	0,730	n.d.	0,841	n.d.	0,052	n.d.	n.d.	0,543	n.d.	2,165
Ary1623	n.d.	0,125	2,357	0,586	0,482	0,041	0,043	0,182	n.d.	3,815
VU373	0,416	n.d.	2,964	n.d.	0,237	n.d.	0,413	n.d.	n.d.	4,030
Mka1505	0,588	n.d.	4,229	n.d.	0,410	n.d.	0,425	n.d.	0,023	5,675
Tan1316	0,289	n.d.	5,061	0,908	1,044	0,211	0,560	n.d.	0,083	8,155
Mall022	0,983	0,171	12,147	n.d.	1,119	n.d.	0,679	n.d.	n.d.	15,099
VU407	1,471	1,532	14,489	0,797	n.d.	1,317	0,149	0,489	n.d.	20,243
Van1989	1,806	0,553	17,453	1,954	3,008	0,698	0,122	1,031	n.d.	26,625
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	1,806	1,532	17,453	1,954	3,008	1,317	0,679	1,031	0,083	26,625
moyenne	0,315	0,119	3,088	0,223	0,343	0,121	0,124	0,119	0,007	4,459
écart-type	0,540	0,356	5,289	0,494	0,711	0,324	0,213	0,268	0,019	7,564
CV%	171,17	299,36	171,28	222,14	207,57	267,26	171,52	225,18	293,71	169,64

Anthocyanes des tubercules *Dioscorea bulbifera* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A13,03	A17,61	A22,31	A25,94	A27,98	A35,35	A38,84	A39,53	Total
Mka1451	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tan1290	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ero1369	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ary1603	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VU620	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mall032	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ero1399	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tan1289	0,104	0,038	n.d.	0,041	0,531	0,114	0,207	0,131	1,166
Epi1529	n.d.	n.d.	n.d.	1,282	n.d.	0,097	0,432	n.d.	1,811
Ero1368	0,230	n.d.	0,159	n.d.	1,995	n.d.	0,129	0,325	2,838
Mall009	0,167	n.d.	n.d.	0,636	2,054	0,099	0,189	0,396	3,541
San1146	0,358	n.d.	0,256	n.d.	2,837	0,272	0,026	0,734	4,483
Mall011	1,325	0,290	0,556	1,052	4,992	0,665	1,558	n.d.	10,439
Mka1487	0,524	0,194	n.d.	0,311	8,817	0,506	0,051	1,133	11,535
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	1,325	0,290	0,556	1,282	8,817	0,665	1,558	1,133	11,535
moyenne	0,193	0,037	0,069	0,237	1,516	0,125	0,185	0,194	2,558
écart-type	0,364	0,089	0,160	0,436	2,587	0,212	0,415	0,348	3,880
CV%	188,36	239,78	230,53	183,53	170,63	169,47	223,85	179,16	151,69

Anthocyanes des bulbilles *Dioscorea bulbifera* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A13,03	A17,60	Pt-3-glc	A22,31	A25,94	A27,47	A35,35	A38,59	Total
<i>Tan1289</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU620</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Ary1603</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Ero1369</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Mall032</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Mka1451</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Mall009</i>	0,023	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,114	n.d.	n.d.	0,137
<i>Epi1529</i>	0,101	n.d.	0,013	0,010	0,053	0,549	n.d.	0,274	1,342
<i>Mall011</i>	0,414	0,133	0,009	0,134	0,044	1,728	0,112	0,320	2,909
<i>Ero1368</i>	0,225	n.d.	0,030	0,263	0,086	1,228	0,171	0,808	3,202
<i>Mka1487</i>	0,312	0,267	0,021	0,204	0,029	2,338	0,417	0,828	4,626
<i>San1146</i>	0,322	0,247	0,006	0,227	0,081	2,994	0,247	0,571	4,700
<i>AND19</i>	0,585	0,393	0,024	0,356	0,134	3,459	0,308	0,040	6,106
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	0,585	0,393	0,030	0,356	0,134	3,459	0,417	0,828	6,106
moyenne	0,152	0,080	0,008	0,092	0,033	0,955	0,097	0,218	1,771
écart-type	0,199	0,136	0,011	0,128	0,044	1,270	0,144	0,319	2,246
CV%	130,29	169,74	136,10	139,59	134,64	133,03	149,63	146,05	126,83

Anthocyanes de *Colocasia esculenta* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A18,80	A19,47	A26,78	A32,02	Total
<i>Abe1895</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU74</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Pen1713</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>San1191</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>TH1</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Abe1813</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>ID83</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>ID280</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU124</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU59</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU202</i>	n.d.	0,340	n.d.	0,188	0,527
<i>Tan1274</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,679
<i>Pen1697</i>	n.d.	n.d.	0,243	n.d.	0,819
<i>VU203</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,282
<i>VU268</i>	n.d.	0,960	n.d.	0,402	1,362
<i>VU280</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,627
<i>Pen1705</i>	1,224	n.d.	n.d.	0,388	1,708
<i>Abe1888</i>	1,123	n.d.	n.d.	0,397	1,930
<i>VU37</i>	n.d.	1,608	0,173	n.d.	2,159
<i>Abe1914</i>	1,839	n.d.	n.d.	0,525	2,485
<i>Epi1558</i>	n.d.	1,859	0,200	0,664	2,723
<i>VU210</i>	1,888	n.d.	n.d.	0,711	2,777
<i>San1196</i>	1,587	n.d.	n.d.	1,019	2,824
<i>Ary1656</i>	1,710	n.d.	n.d.	0,656	3,320
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	1,888	1,859	0,243	1,019	3,320
moyenne	0,390	0,199	0,026	0,206	1,093
écart-type	0,707	0,516	0,070	0,308	1,152
CV%	181,01	259,96	273,34	149,11	105,41

Anthocyanes de *Xanthosoma sagittifolium* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A17,61	A18,80	Pg-3-glc *	A25,75	A32,02	Total
<i>VU1</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU5</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>VU3</i>	0,442	0,159	0,026	2,623	0,050	3,223
<i>VU8</i>	0,650	0,087	0,096	2,489	n.d.	3,225
<i>VU4</i>	0,558	0,086	0,078	2,712	n.d.	3,356
<i>VU7</i>	0,588	0,196	0,091	4,674	n.d.	5,490
<i>VU9</i>	0,679	0,323	0,061	5,790	0,119	7,440
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	0,679	0,323	0,096	5,790	0,119	7,440
moyenne	0,417	0,121	0,050	2,613	0,024	3,248
écart-type	0,295	0,115	0,042	2,161	0,046	2,699
CV%	70,67	94,76	82,42	82,72	189,46	83,11

* en mg /100g MF

Anthocyanes de *Dioscorea esculenta* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A13,03	A25,94	A27,98	Total
<i>Mka1509</i>	n.d.	0,034	n.d.	0,034
<i>Ero1401</i>	0,072	n.d.	n.d.	0,072
<i>Ary1691</i>	0,046	n.d.	0,051	0,096
<i>Ary1626</i>	0,185	n.d.	n.d.	0,185
<i>Mka1514</i>	0,128	n.d.	0,063	0,191
<i>San1179</i>	0,203	n.d.	0,032	0,235
<i>Mka1450</i>	0,137	n.d.	0,162	0,299
<i>Ary1642</i>	0,355	0,110	n.d.	0,465
<i>Mall028</i>	0,277	0,100	0,116	0,494
<i>Epi1544</i>	0,377	0,131	0,179	0,688
<i>San1180</i>	1,218	n.d.	0,337	1,555
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	0,034
maximum	1,218	0,131	0,337	1,555
moyenne	0,273	0,034	0,085	0,392
écart-type	0,336	0,053	0,106	0,435
CV%	123,30	154,34	124,24	110,88

Anthocyanes d'*Ipomoea batatas* (en mg CGE/100 g MF)

Accession	A8,37	A13,43	A14,41	A22,97	A26,84	YGM-6 *	A41,10	A42,19	A47,63	A52,28	A54,00	A57,98	Total
RV30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
162	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mka1432	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Abe1877	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
147	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
161	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
71	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
159	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Abe1891	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
lokol183	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Epi1531	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bankis	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
180	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
59	n.d.	n.d.	n.d.	0,018	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,018
16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,031	n.d.	0,031
Chap28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,075	n.d.	n.d.	n.d.	0,075
165	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,106	n.d.	0,106
157	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,114	n.d.	n.d.	n.d.	0,114
156	n.d.	n.d.	0,051	n.d.	n.d.	n.d.	0,150	n.d.	0,065	n.d.	n.d.	n.d.	0,266
Ary1665	0,050	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,144	0,194	n.d.	n.d.	n.d.	0,388
Ply20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,308	0,093	0,054	0,102	0,556
Si226	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,460	n.d.	0,284	n.d.	n.d.	0,020	0,764
133	0,074	n.d.	n.d.	n.d.	0,124	n.d.	0,461	n.d.	0,405	0,093	0,035	n.d.	1,192
78	n.d.	n.d.	0,152	n.d.	n.d.	n.d.	0,829	n.d.	0,506	n.d.	n.d.	0,037	1,525
Pen1745	0,452	0,310	0,540	0,518	n.d.	n.d.	n.d.	0,461	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,281
110	n.d.	n.d.	0,129	0,180	n.d.	n.d.	0,945	n.d.	0,345	1,033	0,488	0,308	3,427
GV129	0,207	n.d.	0,136	n.d.	0,298	n.d.	0,849	n.d.	1,951	0,180	0,191	0,300	4,112
Tan1306	0,489	0,444	n.d.	n.d.	0,224	n.d.	1,486	n.d.	0,165	0,300	2,174	0,213	5,495
104	n.d.	n.d.	n.d.	0,487	n.d.	n.d.	0,609	n.d.	0,579	1,987	1,118	0,918	5,697
Mka1433	1,139	n.d.	1,558	1,210	0,632	n.d.	n.d.	n.d.	0,309	1,037	2,276	0,387	8,547
EpiJulie37	1,098	1,084	0,661	0,707	0,710	n.d.	2,755	n.d.	0,035	0,435	2,418	0,093	9,998
San1164	0,380	0,303	n.d.	n.d.	0,645	0,060	0,267	2,438	2,957	0,791	2,183	2,307	12,538
minimum	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
maximum	1,139	1,084	1,558	1,210	0,710	0,060	2,755	2,438	2,957	1,987	2,418	2,307	12,538
moyenne	0,118	0,065	0,098	0,095	0,080	0,002	0,267	0,092	0,251	0,180	0,336	0,142	1,731
écart-type	0,290	0,211	0,301	0,263	0,199	0,010	0,577	0,429	0,605	0,432	0,757	0,429	3,225
CV%	245,72	324,83	307,96	277,79	249,08	574,46	215,95	465,58	240,71	239,68	225,62	302,48	186,26

* en mg /100g MF

Flavonols de *Colocasia esculenta* (en mg QGE/100 g MF)

Acc.	F11,24	F15,36	F19,53	F22,96	F25,64	F29,96	F31,04	F32,44	F33,31	F36,63	F37,56	Hypér,*	F38,41	F42,44	F46,39	F46,73	F48,79	Isorh,*	F57,23	F59,80	Total
ID280	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,47	0,00	1,0
Abel1914	0,00	0,02	0,45	0,06	0,37	0,06	0,04	0,04	0,02	0,03	0,04	0,31	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,06	0,20	0,04	2,0
Pen1713	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,3
VU124	0,00	0,00	0,03	0,02	0,00	0,02	0,06	0,00	0,15	0,06	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,48	0,00	1,2
VU268	0,00	0,02	0,46	0,09	0,81	0,28	0,13	0,19	0,00	0,09	0,09	0,33	0,00	0,04	0,15	0,02	0,00	0,06	0,15	0,04	3,0
THI	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,12	0,00	0,4
ID83	0,00	0,00	0,00	0,02	0,05	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,22	0,00	0,5
Pen1705	0,00	0,00	0,29	0,00	0,07	0,03	0,03	0,09	0,10	0,08	0,02	0,51	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,03	0,11	0,00	1,4
Abel1813	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,03	0,06	0,00	0,05	0,02	0,12	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,7
VU202	0,00	0,00	0,25	0,00	0,20	0,07	0,06	0,00	0,00	0,00	0,05	0,22	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,46	0,02	1,6
Ary1656	0,01	0,01	0,35	0,03	0,01	0,10	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	1,51	0,03	0,03	0,12	0,00	0,00	0,20	0,01	0,03	2,6
San1191	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,42	0,00	0,8
VU37	0,10	0,09	1,65	0,51	2,17	0,57	0,64	0,00	0,06	0,04	0,19	0,36	0,05	0,05	0,13	0,00	0,00	0,08	0,05	0,00	7,1
VU59	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,05	0,06	0,28	0,23	0,02	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,05	0,87	0,00	1,9
Abel1888	0,00	0,00	0,32	0,00	0,32	0,00	0,00	0,12	0,00	0,05	0,05	0,46	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,06	0,23	0,00	1,9
San1196	0,00	0,02	0,47	0,05	0,75	0,06	0,07	0,24	0,02	0,07	0,05	0,30	0,00	0,02	0,16	0,00	0,00	0,08	0,15	0,05	2,8
Epi1558	0,00	0,00	0,94	0,32	1,14	0,11	0,00	0,17	0,21	0,02	0,06	0,20	0,21	0,00	0,00	0,10	0,00	0,12	0,10	0,00	3,8
VU210	0,00	0,02	0,43	0,00	0,42	0,17	0,05	0,11	0,00	0,06	0,00	0,89	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	0,12	0,19	0,04	2,9
VU203	0,00	0,00	4,74	1,55	5,20	2,58	0,63	0,38	0,00	0,06	0,91	0,49	0,00	0,17	0,57	0,05	0,07	0,31	0,21	0,46	18,6
Pen1697	0,00	0,00	6,97	2,82	7,77	4,12	1,19	1,11	0,00	0,19	1,84	0,00	0,02	0,44	0,00	0,05	0,16	0,26	0,93	0,89	28,8
Tan1274	0,00	0,25	20,69	6,70	33,74	16,33	12,48	0,25	6,47	1,12	6,62	0,00	0,31	3,06	0,00	0,78	0,40	0,29	1,38	2,51	113,4
Abel1895	2,98	3,05	42,14	12,36	59,59	25,21	0,00	0,00	0,14	0,48	5,03	0,48	1,83	1,03	0,16	0,18	0,21	0,32	2,37	3,43	161,5
VU74	0,19	0,69	59,76	20,40	57,13	29,88	7,49	4,72	0,12	0,95	11,08	0,84	0,14	2,23	0,05	0,93	1,22	0,83	3,41	6,34	209,0
VU280	0,76	0,00	78,04	35,00	88,68	46,84	14,69	10,63	0,51	0,00	24,09	0,95	0,32	4,94	2,23	0,94	1,92	0,00	3,77	11,17	326,7
min	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,3
max	2,98	3,05	78,04	35,00	88,68	46,84	14,69	10,63	6,47	1,12	24,09	1,51	1,83	4,94	2,23	0,94	1,92	0,83	3,77	11,17	326,7
moy	0,17	0,17	9,09	3,33	10,77	5,27	1,57	0,76	0,35	0,15	2,10	0,33	0,12	0,50	0,18	0,18	0,17	0,12	0,68	1,04	37,2
E-T	0,62	0,63	20,81	8,30	23,89	12,06	4,01	2,31	1,31	0,29	5,40	0,39	0,38	1,22	0,46	0,29	0,45	0,19	1,04	2,62	82,7
CV%	368,0	362,7	229,0	248,9	221,8	228,8	255,4	302,3	374,0	201,2	257,1	119,7	310,7	243,0	255,4	163,2	273,9	155,4	151,9	251,4	222,1

Hypéroside (Hyper.), Isorhamnétine-3-glucoside (Isorh.)

* en mg /100g MF

NIR Determination of Major Constituents in
Tropical Root and Tuber Crop FloursVINCENT LEBOT,^{*,†} ANTOINE CHAMPAGNE,[‡] ROGER MALAPA,[§] AND DAN SHILEY^{||}[†]CIRAD, P.O. Box 946, Port-Vila, Vanuatu. [‡]Université de Saint Etienne, 42023 Saint-Etienne, France.[§]VARTC, P.O. Box 231, Santo, Vanuatu, and ^{||}ASD, Inc., 2555 55th Street, Boulder, Colorado 80301

Tropical root and tuber crops (cassava, sweet potato, taro, and yam) are staples in developing countries where rapid urbanization is strengthening the demand for flour based foods. Quality control techniques are still under development, and when available, laboratory analyses are too expensive. The objectives of this study were to calibrate Near-infrared spectroscopy (NIRS) for routine analysis of flours and to test its reliability to determine their major constituents. Flours prepared from 472 accessions (traditional varieties and breeding lines) were analyzed for their starch, total sugars, cellulose, total nitrogen, and ash (total minerals) contents. The near-infrared (350–2500 nm) spectra of all samples were measured. Calibration equations with cross and independent validation for all analytical characteristics were computed using the partial least squares method. Models were developed separately for each of the four crop species and by combining data from all spp. to predict values within each of them. The quality of prediction was evaluated on a test set of 94 accessions (20%) by standard error of prediction (SEP) and r^2 parameters between the measured and the predicted values from cross-validation. Starch, sugar, and total nitrogen content could be predicted, respectively, with 87%, 86%, and 93% confidence, whereas ash (minerals) could be predicted with 71%, and cellulose was not predictable ($r^2 = 0.31$). The statistical parameters obtained for starch, sugars, and total nitrogen are of special interest for flour quality control. These constituents are quantitatively the most important in the chemical composition of flours, and starch content is negatively correlated with sugars and total nitrogen. NIRS is a low cost technique well adapted to the conditions in developing countries and can be used for the high-throughput screening of a great number of samples. Possible applications are discussed.

KEYWORDS: Cassava; flours; major constituents; NIRS; sweet potato; taro; yam

INTRODUCTION

In developing countries, the tropical root and tuber crops, cassava (*Manihot esculenta*), sweet potato (*Ipomoea batatas*), taro (*Colocasia esculenta*), and yam (*Dioscorea* spp.), are the second most important group of crops, just after the cereals. The world production was estimated in 2008 to be around 415 millions tons produced from 35 millions ha (1). These species belong to different botanical families but are often grouped together because their biological similarities: they are vegetatively propagated, bulky, and perishable. In many countries, they are grown in home gardens or in mixed cropping systems complementing each other throughout the year to produce a steady supply of energy.

Cassava is cooked in fresh and boiled form, in toasted granules (*gari* and *attiéké* in West Africa or *farinha* in Brazil), chips, flour (*lafin*), and as paste (*fufu*) in Africa. Rapid urbanization is strengthening flour demand, and in many African cities, cassava flour is increasingly mixed with wheat flour to prepare local bread and reduce dependency on imported cereals (2). Sweet potato is

traditionally processed into dried chips and flour to preserve the product. Sun-drying is the simplest dehydration technique, and the roots are washed, peeled, and sliced before being exposed directly to the sun. Different cultivars have different properties, and farmers experiment before selecting the best one for processing, which is often not the one they prefer to consume fresh and boiled (3). Taro corms may be roasted, baked, boiled, steamed, or fried, or they may be processed into chips, flakes, and flour. The hot air-dried chips are ground into flour with a hammer mill and can be stored for one year. This type of flour is a base for baby food and taro-based bread. There is significant variation in the functional properties of the taro flours depending on the variety used (4, 5), and there are various improvements depending on the locations and the means available (6). Yam flour is prepared from tubers sun-dried for several days. The dried tuber pieces are then pulverized into flour with electric or mechanical mills. The resulting flour can be stored in bags for months and is quite convenient for the evergrowing cities of West Africa. The flour is stirred over boiling water and cooked for a few minutes in order to obtain a thick viscous *fufu* which resembles the one obtained with pounded boiled yam. The varied texture characteristics of yam flours have been shown to be of industrial interest in the

*Corresponding author. Tel/Fax: +678 25847. E-mail: lebot@cirad.fr.

Philippines (7). Their similarities to other commercial starches or flours are useful for the product development of noodles, snacks, and baby foods. In Taiwan, the incorporation of *Dioscorea alata* flour in bread has been shown to markedly increase the antioxidant capacity of the blended bread and does not interfere with its acceptability (8).

The physicochemical characteristics of the tropical root and tuber crop raw material reflect the genetic diversity of the cultivars used in smallholder cropping systems. Chemical compositions in major constituents (starch, total sugars, cellulose, total nitrogen, and minerals) also reflect this diversity (9). Unfortunately, in many cases, quality control techniques are still under development, and when available, laboratory analyses are too expensive. The paucity of technical information hinders wider utilization and adds constraints to the development of new processed products needed by urban dwellers. Among the numerous research priorities are the characterization and the genetic improvement of the nutritional properties of the tropical root and tuber crops (10), but very few breeding programs have the financial and technical means to screen large progenies for their chemical composition.

Near-infrared spectroscopy (NIRS) has become a widely used method of quality control in the food processing industry (11–14). It is a rapid, cost-effective, and nondestructive technique, allowing the simultaneous determination of major constituents in a mixture by multivariate data analysis. NIRS has already been used to measure potato (*Solanum tuberosum*) tuber quality, but the analytical performance has been shown to be highly dependent on the cultivar (15, 16). Potato starch and protein parameters have been estimated by NIRS. Starch content was found to be predicted with 90% confidence, while total protein content could be predicted with 62% confidence (17). Among the tropical root and tuber crops, NIRS application to sweet potato quality control has been investigated, especially for measuring starch quality and pasting properties. NIRS was reasonably accurate in predicting total starch and protein contents, but the other major constituents were not studied (18).

Although cassava, sweet potato, taro, and yam flours are commonly used in developing countries, NIRS potential is clearly under-researched, especially for food processing enterprises and for screening large number of samples in breeding programs aiming at improving the chemical composition of cultivated varieties. The objectives of the present study are to calibrate NIRS for the routine analysis of tropical root and tuber crops and to test its reliability in determining major constituents (starch, total sugars, cellulose, total nitrogen, and total minerals).

MATERIALS AND METHODS

Sample Preparation. Overall, 472 samples were collected from germplasm collections maintained at the Vanuatu Agricultural and Research and Technical Center (VARTC) on Santo Island, Vanuatu (Table 1). Local cultivars originated from different islands of Vanuatu, while introduced cultivars originated from different Asian countries. Breeding lines were part of populations obtained via open-pollination in poly-cross plots corresponding to different cycles of a recurrent selection program. The accessions were selected to represent the morphological variation existing within each species. These accessions were planted together and at the same time in a common plot and were harvested when mature. Depending on genotype, harvest was conducted 3–4 months after plantation for sweet potato accessions and 8–10 months after for cassava, taro and yams. Central transverse sections of the roots and tubers were selected and cut for each accession. Approximately 1–2 kg of fresh weight were manually peeled and sliced into chips and oven-dried at 60 °C for 48 h. Dry matter samples were split into two subsamples: one subsample

Table 1. Total Number of Accessions Analyzed for Major Constituents and NIRS

species	total accessions	local cultivars	introduced cultivars	breeding lines
cassava (<i>Manihot esculenta</i>)	62	62	0	0
sweet potato (<i>Ipomoea batatas</i>)	167	21	6	140
taro (<i>Colocasia esculenta</i>)	108	47	16	45
yams (<i>Dioscorea</i> spp.)	135	105 ^a	20 ^b	10 ^c
total	472	235	42	195

^aIncluding 70 *D. alata*, 5 *D. bulbifera*, 14 *D. esculenta*, 6 *D. nummularia*, and 10 *D. transversa*. ^bIncluding 14 *D. alata* and 6 *D. cayenensis-rotundata*. ^cIncluding 10 *D. alata*.

was used for chemical analysis, and the other subsample was used for NIRS measurements. Samples of 150–250 g, prepared at the Food Processing Laboratory of the Department of Agriculture in Port-Vila, Vanuatu, were sent to France for chemical analyses. Samples of approximately 50 g of dried chips were processed into flour just after oven drying and were ground in a stainless kitchen steel mill (SEB, France) in Vanuatu prior to NIRS analysis.

Chemical Analyses. Analyses of major constituents (residual moisture, starch, sugars, cellulose, total nitrogen, and ash) were conducted by Laboratoire d'Analyses Agricoles Teyssier, Bourdeaux, France, according to AFNOR (Association Française, the French standards association) and/or EEC methods (The AFNOR group: <http://www.boutique.afnor.org/BGRI/AccueilGroupe.aspx/>).

Following NF (Norme Française) V 18-109 for dry matter determination, samples were dried again to remove residual moisture (measured as % of total dry weight), and the powder was analyzed on an oven-dried air basis. Moisture was therefore expressed as a measurement of the sample prior to drying. All measurements were then expressed in percentages of dry matter (% DM), and the data were adjusted by the residual moisture following oven drying. Starch was quantified using Ewer's protocol (NF ISO 10-520) corresponding to hydrolysis in HCl, filtration, and polarimetric measurement. Total sugars were quantified through the colorimetric method of Luff-Schoorl (CEE 98/54/CE). Crude cellulose was measured by the Weende method (NF V 03-040), which corresponds to non-soluble organic residues obtained by sulfonic acid and alkaline treatments. Total nitrogen content was calculated using the Kjeldahl method (NF V 18-100). Estimation of total mineral content was obtained from ashes produced at 550 °C (NF V 18-101). All analyses were performed in duplicate with an accepted mean coefficient of variation of $\pm 3\%$ for starch, sugars, cellulose, and residual moisture, and $\pm 2\%$ for proteins (total N) and ashes (minerals).

NIRS Measurements and Data Pretreatment. Flour sample granules size was homogenized using four sieves with decreasing diameters until flour granules pass through the 106 μm sieve. An ASD LabSpecPro spectrophotometer from Analytical Spectral Devices Inc. (ASD Inc., Boulder, Colorado, USA) fitted with a muglight or high intensity source probe (HISP) (ASD Inc.) was used for the measurement of all spectra over the wavelength range of 350–2500 nm. On average, 6 g of homogenized flour was placed in an individual cell for the HISP and compacted with a tea spoon to eliminate air voids within the sample. Each spectrum was obtained by averaging three different cells (repetitions) per sample with 25 scans for each. A reference reading (baseline) was taken when starting a session and another every 30 min. All of the spectra were recorded in diffuse reflectance as $\log(1/R)$ with respect to a Labsphere's Spectralon material reflectance standard (Labsphere, Inc.), which is a lambertian reflective PTFE (thermoplastic resin) with high overall reflectance. Overall, 472 spectra were recorded and converted to absorbance (Figure 1) using the Indico software (ASD Inc.).

Data Analysis and Model Development. The spectra and reference data were mathematically modeled using GRAMS/AI version 8.0 with PLSPlus/Q spectroscopy software (Thermo Electron Corporation). Using the values obtained with chemical analyses as the analyte value, a separate calibration was made for each of the five major constituents of the dry matter: starch, total sugars, cellulose, total nitrogen, and ash (minerals). Calibration of residual moisture was not attempted because spectra were recorded in Vanuatu, just after oven drying the samples,

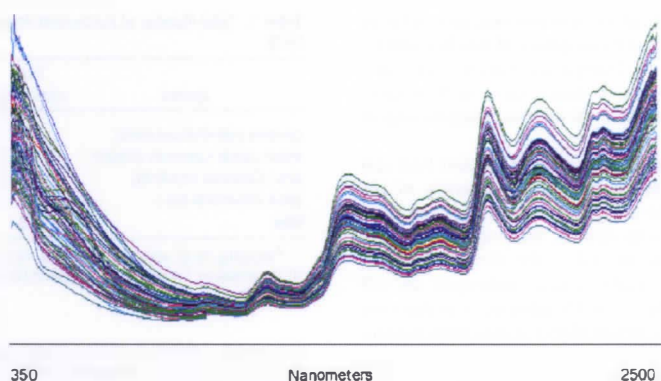


Figure 1. NIRS spectra corresponding to 472 flour samples over 350–2500 nm wavelength (absorbance).

while residual moisture was measured in France on hygroscopic dry raw material.

Partial least-squares (PLS) regression technique was used to develop a predictive model of the near-infrared part of the spectra (1000–2500 nm). The aim of PLS regression was to get as much concentration information as possible into the first PLS factors (19). The optimum number of PLS factors used for prediction was determined by full cross-validation and PRESS (prediction residual error sum of squares). Full cross-validation is leave-one-out, and $n - 1$ is the calibration set, and one sample is predicted. This is repeated until all of the samples are predicted. Additionally, light scattering effects due to particle size differences were corrected by multiplicative scatter correction (MSC), a common method squaring the effects by adjusting the spectra based on ranges of wavelengths supposed to carry no specific chemical information. The data was mean-centered and the average spectrum calculated from all of the calibration spectra and then subtracted from every calibration spectrum. Mean centering enhances the subtle differences between the spectra. PLS models were developed for each species separately, and a model combining all crop species (all spp., Table 3) together was also created.

In order to assess the performance of the calibration, samples were separated into two sets: the calibration and the prediction sets. The calibration set contained 378 samples, and the prediction set was created by randomly selecting 20% of the accessions within each crop species (over a total of 472 accessions) and included 12 cassava accessions, 33 sweet potato, 22 taro, and 27 yams (total of 94 samples) representing subset sets for each crop species (Table 3).

As part of the model process, a principal component analysis (PCA) was used to check for gross spectral outliers. The Mahalanobis distance of each spectrum to the mean spectrum of the group was calculated. The removal of spectral outliers was based on Mahalanobis distance $H > 3$ from the average spectrum of the file, and outlier samples were removed because of their heterogeneity. Spectra and concentration outliers were removed, and PLS was run again until the highest r^2_{cv} (determination coefficient for cross-validation) and the smallest standard error of cross-validation (SECV) were obtained. At that point, factor loadings were used to determine which wavelengths were important to correlate with concentrations in order to narrow down the spectral region. The PLS analysis was then conducted again on this new region in order to obtain for each constituent equations with higher explanation of the total variability in the calibration values without increasing the number of PLS factors used.

The calibration statistical parameters used to evaluate models performances include the standard error of calibration (SEC), the determination coefficient for cross-validation (r^2_{cv}), the standard error of cross-validation (SECV), the determination coefficient for prediction (r^2_{pred}), and the standard error of prediction (SEP). SEC and SEP were calculated using an Excel spreadsheet by squaring the differences of the actual minus the predicted concentrations for each sample in the calibration (SEC) and test (SEP) sets. These values were then summed, and the sum was divided by the number of samples (n). The square root of this value was used for SEC and SEP. SEC describes the calibration set, and SEP describes the test set composed of samples not included in the calibration set. In addition to the

coefficients of determination for cross-validation (r^2_{cv}) and prediction (r^2_{pred}), the ratio of performance to deviation (RPD = $SD/SECV$) was also used to evaluate performances of the developed models (with SD as the standard deviation of the original chemical data in the calibration set) (20–22).

RESULTS AND DISCUSSION

Variability of the Major Constituents and Composition. Chemical analyses results are presented in Table 2. Overall, the sampling approach based on the selection of morphological variation within each crop species (Table 1) resulted in the assemblage of 472 highly variable accessions based on their major constituents values. Except for starch (CV of 10.49%), the four other constituents exhibited remarkable variation with respectively, 73.8% for total sugars, 38.3% for cellulose, 49.84% for total nitrogen, and 30.51% for ashes (Table 2). This variation appears somewhat lower than the one observed in the international cassava collection (23, 24) but is comparable to the one reported for sweet potato (3), and is greater than those previously reported for taro (25, 26) and yams (27–30). Correlation coefficients computed independently within each of the four crop species (not presented here) revealed the same trends as those of the whole sample composed of 472 accessions. Starch is negatively but significantly correlated with sugars, cellulose, total nitrogen, and ashes.

NIRS Calibration. NIRS spectra corresponding to 472 flour samples over 350–2500 nm wavelengths are presented in Figure 1. PLS regression was applied to develop predictive models for the five major constituents using the chemical values of 378 samples and the near-infrared part of the spectra (1000–2500 nm) (Table 3). The r^2 values give an indication of the percentage variation in the Y variable that is accounted for by the X variable. Therefore, r^2 values above 0.50 indicate that over 50% of the variation in Y is attributable to the variation in X . Higher r^2 values improve discrimination. It is generally accepted that models with an r^2 of 0.66–0.81 can be used for screening and that approximate quantitative predictions, models with r^2 values between 0.83 and 0.90, can be used for many applications, while models with values of 0.92–0.96 are suitable for most applications including quality control and those above 0.98 for all applications. Model prediction accuracy was evaluated with RPD: values below 1.5 are considered unusable, those between 1.5 and 2.0 can be used for rough predictions, those between 2.0 and 2.5 allow approximate quantitative predictions, while values above 2.5 and 3.0 are, respectively, considered to be good and excellent predictive models (23).

Table 2. Major Constituents Analyzed in 472 Samples of Tropical Root and Tuber Crops

species	n	moisture % TDW	starch % DM	sugars % DM	cellulose % DM	total nitrogen % DM	ashes % DM
cassava	62						
min		8.45	79.84	1.52	1.73	1.33	1.24
max		11.16	91.21	10.12	6.98	5.61	3.53
mean		9.97	86.49	4.43	3.37	2.59	2.45
std error		9.97	2.68	1.60	1.09	0.82	0.45
CV %		5.86	3.1	36.08	32.27	31.71	18.26
sweet potato	167						
min		6.6	53.3	1.49	2.39	2.67	2.06
max		12.04	83.83	25.29	12.56	10.2	8.22
mean		9.61	69.15	10.17	4.11	5.92	3.5
std error		0.58	5.85	4.83	1.46	1.23	0.87
CV %		11.23	8.47	47.49	35.39	20.73	24.76
taro	108						
min		8.8	60.77	0.9	1.4	2.3	1.47
max		14.05	88.2	18.58	7.3	14.79	8.13
mean		11.2	78.01	5.17	3.4	5.45	4.08
std error		1.26	5.62	3.00	1.02	1.99	0.99
CV %		11.41	7.21	58.01	30.11	36.44	24.28
yam	135						
min		5.6	58.78	0.4	0.1	4.4	1.58
max		12.7	90.4	18.3	6.3	21	8.1
mean		10.7	77.14	3.62	2.68	10.39	4.36
std error		1.1	6.09	3.56	0.98	3.13	1.20
CV %		10.1	7.9	98.19	36.61	30.16	27.56
total	472						
min		5.6	53.3	0.4	0.1	1.33	1.24
max		14.05	91.21	25.29	12.56	21	8.22
mean		10.29	75.74	6.4	3.44	6.66	3.74
std error		1.25	7.95	4.72	1.32	3.32	1.14
CV %		12.17	10.49	73.8	38.3	49.84	30.51

Regarding starch, the SECV values observed for each root and tuber crop species were close to the SECs, which means fair and robust fitting. These values were good estimations of the accuracy of the equation as they were close to the standard error of prediction (SEP) obtained on the validation samples (Table 3). In fact, when combining the four crops together, the combined model (all spp.) values were 2.41 for SECV, 2.70 for SEC, and 2.74 for SEP. The equation for cassava explained the least amount of variation (82%) within the reference values (chemical results) with a SECV equal to 1.10%, whereas the equation of yam presented an r^2_{cv} equal to 0.88 with a SECV error equal to 2.03% and r^2_{pred} of 0.91. The r^2_{cv} for the equation of all spp. combined was equal to 0.91 with an r^2_{pred} of 0.87. Deviations of single samples are visualized in a scatter plot between measured and predicted values (Figure 2). In terms of predictive performance, the equations for starch are good with RPD parameters above 2 for yam and all spp. combined.

The total sugars model developed for all spp. combined presented very similar SECV, SEC, and SEP values, 1.64, 1.64, and 1.66, respectively, indicating very robust fitting. Deviations of single samples are visualized in a scatter plot between measured and predicted values (Figure 3). Surprisingly, these values were more variable for models developed for cassava (0.79–0.92–0.58), sweet potato (1.77–2.15–1.53), taro (1.42–1.69–1.21), and yam (0.93–1.21–1.37). Total sugars were predicted with 91% of confidence for sweet potato but only 64% for taro.

Total nitrogen SECV values obtained with the model developed with all spp. combined were close to SEC and SEP values (0.73–0.88–0.77), indicating good and robust prediction with 93% of confidence in prediction. Deviations of single samples are visualized in a scatter plot between measured and predicted values (Figure 4). The r^2_{cv} and r^2_{pred} were high for all four species models, with the second ranging from 0.81 for taro to 0.96 for cassava.

Surprisingly and although minerals have a poor relationship with NIRS, they could be predicted with 71% of confidence in all spp. combined, with 82% in taro and up to 90% of confidence in cassava as shown by their respective r^2_{pred} values (Figure 5).

Cellulose was not satisfactorily predicted. No PLS term was obtained for cassava, limiting further calculations. The determination coefficients for calibration and prediction (r^2_{cv} and r^2_{pred} values) were very low and were all under 0.4, indicating poor prediction confidence (Figure 6).

The confrontation of the NIRS spectra and the chemical value allowed for the establishment of equations of calibration for the prediction of starch, sugars, and total nitrogens. The statistical parameters obtained are of special interest for flour quality control. These constituents are quantitatively the most important ones for determining the chemical composition of flour, sugars and total nitrogen being negatively correlated with starch. Their respective r^2_{pred} values (0.87, 0.86, and 0.93) are high and allow for good estimates of their contents in root and tuber crop flours. However, determination coefficients for the prediction sets (r^2_{pred}) cannot reflect the whole situation because the range of sample values in the prediction test set affects the coefficient value. SEP is, therefore, a better overall indicator.

RPDs are between 2 and 2.5 in eight models allowing for approximate quantitative predictions to be made, and values above 2.5, considered to be good models, are observed for starch in all spp., sugars in yam, and total nitrogen in sweet potato. The model for total nitrogen in all spp. combined with a RPD value above 3 can be considered as an excellent predictive model (23). The number of terms is relatively low if we consider a general recommendation of 1 factor for every 10 samples in a model (Table 3).

When comparing the performances of the combined model (all spp.) versus models developed for individual crop species, it is

Table 3. Statistical Parameters of the Calibration and Prediction Sets^a

model	region (nm)	n	mean % DM	SD	SEL \pm	out-liers $H > 3$	PLS terms	R^2_{cv}	SECV	SEC	prediction set					
											each sp. predict ^b			all predict ^c		
											n	R^2_{pred}	SEP	RPD	R^2_{pred}	SEP
Starch																
cassava	1100–2300	50	86.01	2.11	2.58	0	8	0.83	1.10	1.32	12	0.82	1.44	1.92	0.56	2.07
sweet potato	1000–2400	133	68.97	4.53	2.07	0	9	0.80	2.60	3.18	34	0.83	2.55	1.74	0.81	2.75
taro	1200–2200	87	78.62	4.47	2.36	4	8	0.78	2.51	2.95	21	0.86	2.22	1.78	0.79	2.98
yam	1000–2400	108	77.77	4.53	2.33	1	11	0.88	2.03	2.70	27	0.91	1.55	2.23	0.74	2.79
all spp.	1000–2200	378	76.51	6.57	2.30	9	14	0.91	2.41	2.70	94	0.87	2.74	2.73	0.87	2.74
Sugars																
cassava	1000–2200	50	4.65	1.15	0.14	2	6	0.70	0.79	0.92	12	0.77	0.58	1.46	0.86	0.70
sweet potato	1000–2400	133	10.32	3.83	0.31	0	8	0.86	1.77	2.15	34	0.91	1.53	2.16	0.89	1.87
taro	1200–2400	87	5.33	2.19	0.16	4	6	0.65	1.42	1.69	21	0.64	1.21	1.54	0.58	1.51
yam	1200–2400	108	3.24	2.60	0.10	6	9	0.90	0.93	1.21	27	0.72	1.37	2.80	0.55	1.97
all spp.	1200–2400	378	5.74	3.78	0.17	8	10	0.88	1.64	1.64	94	0.86	1.66	2.30	0.86	1.66
Cellulose																
cassava	1000–2500	50	3.48	0.81	0.10		0				12				0.01	1.38
sweet potato	1200–2400	133	4.63	0.99	0.14	0	3	0.14	1.35	1.87	34	0.25	0.18	0.73	0.08	1.15
taro	1200–2200	87	3.18	0.74	0.10	5	2	0.23	0.80	0.98	21	0.36	0.04	0.93	0.58	0.85
yam	1000–2400	108	2.39	0.75	0.07	3	2	0.39	0.69	0.69	27	0.28	0.81	1.09	0.34	0.79
all spp.	1000–2400	378	3.34	0.94	0.10	9	8	0.29	0.98	1.13	94	0.31	1.03	0.96	0.31	1.03
Total Nitrogen																
cassava	1200–2400	50	2.40	0.62	0.05	4	7	0.88	0.29	0.28	12	0.96	0.14	2.14	0.95	0.36
sweet potato	1200–2400	133	5.78	0.92	0.12	4	9	0.88	0.41	0.61	34	0.81	0.65	2.24	0.70	0.82
taro	1000–2400	87	5.68	1.40	0.11	8	9	0.89	0.48	0.57	21	0.94	0.30	2.92	0.89	0.67
yam	1200–2400	108	10.12	2.38	0.20	3	6	0.89	1.03	1.26	27	0.88	0.78	2.31	0.85	0.89
all spp.	1200–2400	378	6.53	2.56	0.13	11	11	0.95	0.73	0.88	94	0.93	0.77	3.51	0.93	0.77
Ash																
cassava	1000–2400	50	2.58	0.34	0.05	2	6	0.85	0.17	0.20	12	0.90	2.62	2.00	0.94	0.15
sweet potato	1200–2400	133	3.33	0.54	0.07	3	5	0.40	0.55	0.70	34	0.43	0.51	0.98	0.26	0.61
taro	1200–2400	87	4.22	0.72	0.08	5	6	0.84	0.35	0.46	21	0.82	0.62	2.06	0.68	0.74
yam	1300–2400	108	4.38	0.95	0.09	1	7	0.48	0.87	1.38	27	0.61	0.80	1.09	0.60	0.90
all spp.	1000–2400	378	3.89	0.88	0.08	7	11	0.70	0.57	0.70	94	0.71	0.70	1.54	0.71	0.70

^a R^2_{cv} = determination coefficient of calibration; SD = standard deviation of the chemical data; SEL = standard error of the reference method; SECV = standard error of cross-validation; SEC = standard error of calibration; R^2_{pred} = determination coefficient of prediction; SEP = standard error of prediction; RPD = ratio of performance to deviation (RPD = SD/SEC). ^b Models developed for each sp. are used to predict each sp. test sets. ^c Models developed for all spp. combined are used to predict each sp. test sets.

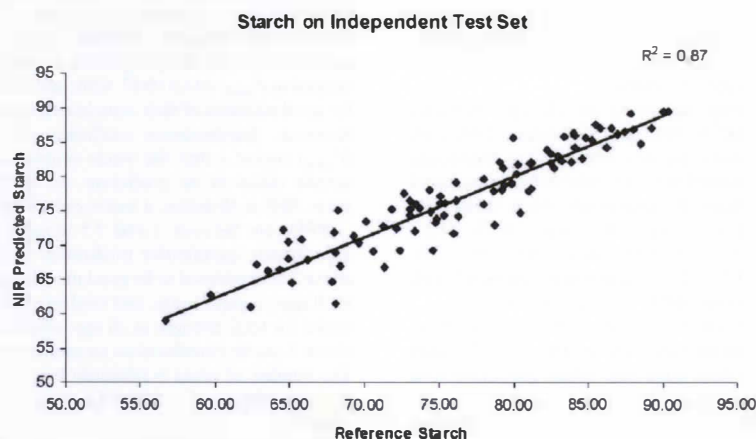


Figure 2. Starch prediction comparison on an independent test set.

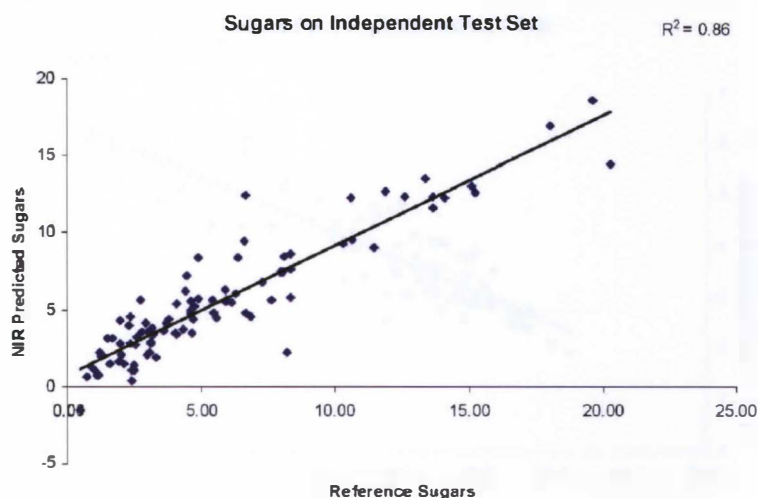


Figure 3. Sugar prediction comparison on an independent test set.

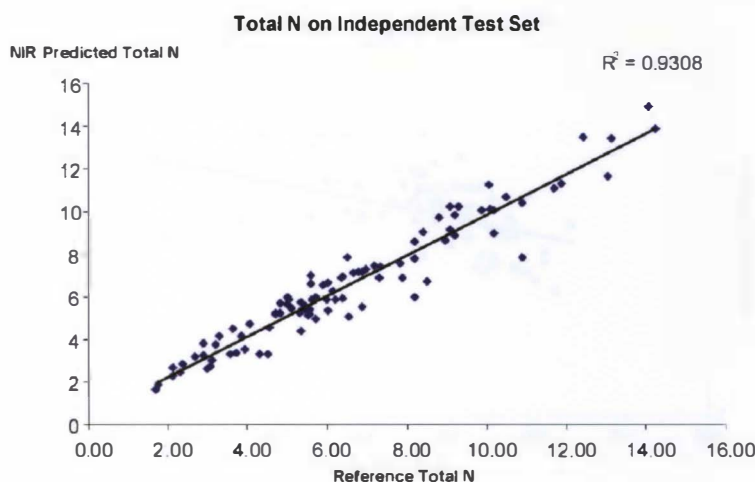


Figure 4. Total nitrogen prediction comparison on an independent test set.

interesting to observe, in the case of starch, for example, that since all SEP values were similar to the overall SEP, no crop species was poorly represented by the combined model. Determination coefficients generally improve as the working range increases. Consequently, if more ranges are added when different species are combined in the same model, then they could improve coefficient values. Additionally, when different species values are combined, a larger spectral diversity is described, and therefore, some samples within a particular species might actually be better spectrally described as the spectra of the four species have been added together. When comparing the performance of the models developed using the values of all spp. combined, in most cases the SECV individual was close enough to the SEP combined, indicating fairly robust fitting. Also, comparing the SECV combined with the SEP combined (on individual species) showed that almost all species were well represented by the combined model. This demonstrates that individual species can be combined in a single model without adverse results. These findings

show that NIR spectroscopy has the potential to serve as a rapid method for predicting the chemical composition of root and tuber crop flours.

Similar studies have already been conducted on flours made from cereals. NIRS has been shown to be useful for predicting the protein composition of rice flour, the best model giving $r^2 = 0.992$ (SEP = 0.138%) (31, 32). The use of NIRS has also been proposed to monitor the protein content of flour in order to optimize the milling conditions. Control of the blending of flours or supplementation with wheat gluten to achieve a composite flour of a given protein content has been suggested (33). The accuracy and precision of NIR for protein, moisture, particle size, color, and starch damage were satisfactory for quality control purposes and rapid flour testing (34). For wheat flour, protein content has been predicted with accuracy similar to that of the reference method with an r^2 of 0.99 (35). NIRS is also an interesting technique for breeders. NIR analysis has been shown to be sufficiently accurate for the routine screening of large numbers

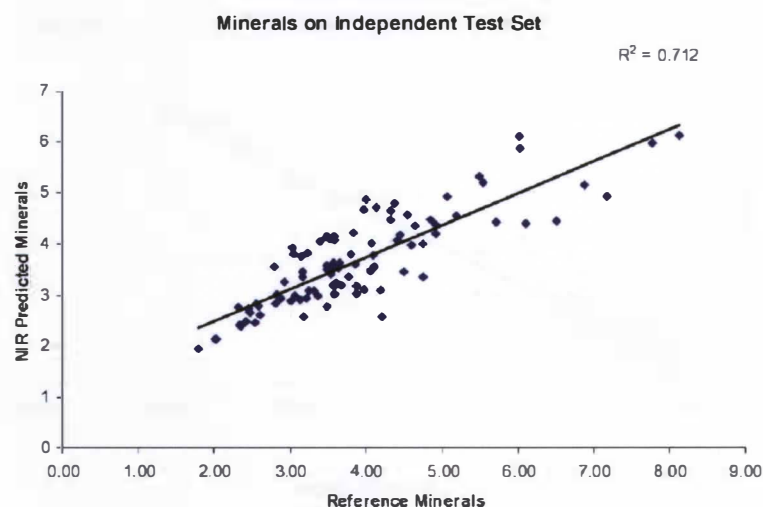


Figure 5. Mineral prediction comparison on an independent test set.

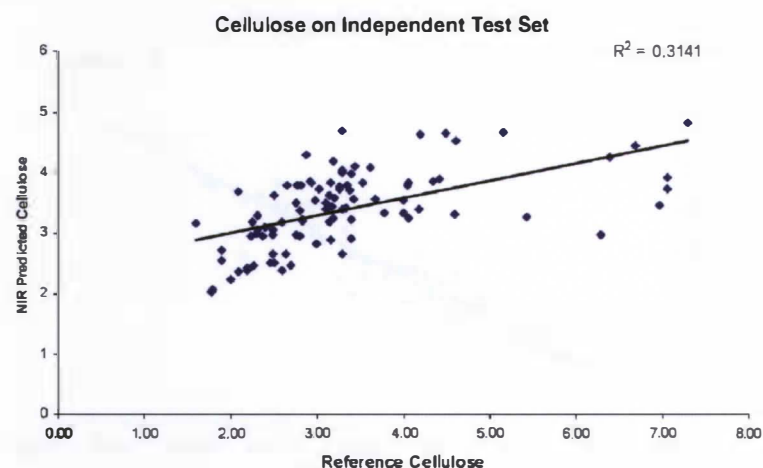


Figure 6. Cellulose prediction comparison on an independent test set.

of samples in early generation selection in rice breeding programs (36). Whole NIRS spectra provided a useful tool for describing the global evolution of the chemical composition of the grain of French wheat and for analyzing their evolution (37).

The protein content is usually estimated by multiplying the total nitrogen content by a standard conversion factor of 6.25. However, the nitrogen to protein ratio does vary according to the species considered. This factor is different for each crop species and changes with amino acid content and mineral nitrogen and nonprotein nitrogen in flour. Because conversion factors are critical to enabling the simple conversion of total nitrogen values into protein values, it would be necessary to use specific conversion factors for different root crop species (38, 39). This would be more accurate and preferable when attempting to express nitrogen as protein. Unfortunately, although some work has been done on tropical root crop species, such as sweet potato (40), the greater yam (*D. alata*) (41), and cassava (42), not much is known for other yam species and taro. For cassava, however, the work was conducted on only 15 varieties, and conversion factors based on Kjeldahl nitrogen ranged from

2.5 to 3.7. For the present study, we therefore decided to present our results as total nitrogen and not protein. It would be of interest in the future to improve the calibration models on the real protein contents of each species which vary according to amino acids, the principal nutritional viewpoint.

NIRS is a rapid and reliable technique that has found many applications within the fields of food and crop analysis (43). The advantages of NIRS are very low operating costs and a lack of production of chemicals (toxic) and/or waste products. NIRS predictions are frequently more reproducible than the chemical analyses used as the reference method. The absence of chemicals involved and the simple spectral collection help to eliminate operator errors and improve the transferability of methods between countries. The major constraint is the need to build a stable and reliable calibration model, which in itself is dependent on robust and accurate laboratory references and a large and diverse sample calibration set. These attributes are making NIRS an interesting technique for developing countries, either for quality control or for breeding programs.

At present, depending on the technical and financial means, there is some variation between the existing breeding programs, but the rationale is the same. Heavy selection pressure is applied very early for resistance to diseases. The selection process is visual in order to minimize the costs and maximize the number of genotypes assessed. The selected clones are then released as new varieties. A new selection cycle begins in which the new varieties are used as parents. The selection process is equivalent to mass recurrent selection. Great numbers have to be screened to achieve some progress. The process is based on the capture of additive effects and is particularly efficient for traits with high heritability when there is a broad genetic base. Unfortunately, chemotypes with attractive properties are often eliminated because of the high selection pressure on other traits. A common difficulty in breeding programs is to satisfy the requirements of both the industry and the fresh market. An industrial variety must have high dry matter and starch contents (for alcohol production and starch extraction). For human fresh consumption, flesh color and good cooking quality are important traits. High carotene and proteins are preferred for the feed industry. Obviously, NIRS could assist breeders in their choice and selection of the best genotypes, on the basis of the chemical composition required for their ideotype depending on the chemotype requested by the market (high starch, amylose, sugars, or protein content).

The results from this study demonstrate that NIRS has good potential for the screening of starch, sugars, and total nitrogen contents of flours made from tropical root and tuber crops. The combined model (all spp.) remains interesting. It is not as accurate as the single species models, but if we consider that unknown genotypes, not previously encountered with the single species model, are added to a collection, it is likely that the combined model would do better because it contains a wider range of diversity. For a germplasm screening tool, it would probably make sense to use the combined model because it represents more spectral variation. It could be of particular interest for genetic resource curators willing to characterize their numerous accessions rapidly. Such a model has a wide prediction range which allows the rapid assessment of unknown genotypes, and it could therefore be used for preliminary screenings.

The species predictive models show good accuracy, but it remains to be seen whether larger sample sets will improve models sufficiently to enable more precise prediction of the concentrations within each crop species (cassava, sweet potato, taro, and yam). Further work should concentrate on validating the results across a wider range of genotypes within the four major species, over different years, and on developing more stable predictive models. These species models could be useful for breeding programs. Other constituents such as amylose, carotenoids, or individual sugars should be investigated.

ABBREVIATIONS USED

r^2_{cv} , determination coefficient of calibration; SD, standard deviation of the chemical data; SEL, standard error of the reference method; SECV, standard error of cross-validation; SEC, standard error of calibration; r^2_{pred} , determination coefficient of prediction; SEP, standard error of prediction; RPD, ratio of performance to deviation ($RPD = SD/SEC$).

ACKNOWLEDGMENT

We thank S. Stephens for laboratory assistance in preparing samples and taking spectra.

LITERATURE CITED

- (1) FAO. www.fao.org.
- (2) Westby, A. Cassava Utilization, Storage and Small-Scale Processing. In *Cassava: Biology, Production and Utilization*; Hillocks, R. J., Thresh, J. M., Bellotti, A. C., Eds.; CABI Publishing: Wallingford, U.K., 2002; pp 281–300.
- (3) Woolfe, J. A. *Sweet Potato. An Untapped Food Resource*; Cambridge University Press: Cambridge, U.K., 1992; p 643.
- (4) Njintang, Y. N.; Mbofung, C. M. F.; Moates, G. K.; Parker, M. L.; Craig, F.; Smith, A. C.; Waldron, W. K. Functional properties of five varieties of taro flour, and relationship to creep recovery and sensory characteristics of *achu* (taro based paste). *J. Food Eng.* 2007, 82 (2), 114–120.
- (5) Njintang, Y. N.; Kesteloot, R.; Blancher, G.; Aoubakar, Scher, J.; Mbofung, C. M. F. Puncture and stress relaxation behaviour of taro paste as affected by moisture content and puncture rate and depth. *J. Food Eng.* 2008, 86 (3), 349–357.
- (6) Huang, A. S.; Komarasamy, K.; He, L. Recent Developments in Taro-Based Food Products in Hawaii. In *Proceedings of the 3rd Taro Symposium*; Guarino, L., Taylor, M., Osborn, T., Eds.; Secretariat of the Pacific Community: Nadi, Fiji, 2004; pp 226–229.
- (7) Salda, V. B.; Ramsden, L.; Sun, M.; Corke, H. Genetic variation in physical properties of flour from selected Asian yams (*Dioscorea* spp.). *Trop. Agric. (Trinidad)* 1998, 75 (2), 212–216.
- (8) Hsu, C. L.; Hwang, S. L.; Chen, W.; Weng, Y. M.; Tseng, C. Y. Qualities and antioxidant properties of bread as affected by the incorporation of yam flour in the formulation. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2004, 39, 231–238.
- (9) Bradbury, J. H.; Holloway, W. D. Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for Nutrition and Agriculture in the Pacific, 1988; ACIAR Monograph No. 6., Canberra; p 201.
- (10) Lebot, V. *Tropical Root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids*; CABI Publishing: Oxfordshire, U.K., 2009; p 413.
- (11) Burns, D. A.; Ciurczak, E. W., Eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*; Marcel Dekker: New York, 1992.
- (12) Downey, G. Qualitative analysis in the near-infrared region. *Analyst* 1994, 119, 2367–2375.
- (13) Bertrand, D.; Dufour, E., Eds. *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*, 2nd ed.; Lavoisier: Paris, France, 2006; p 660.
- (14) Huang, H. B.; Yu, H. Y.; Xu, H. R.; Ying, Y. B. Near infrared spectroscopy for on-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *J. Food Eng.* 2008, 87, 303–313.
- (15) Hartmann, R.; Büning-Pfaue, H. NIR determination of potato constituents. *Potato Res.* 1988, 41, 327–334.
- (16) Dijk van, C.; Fischer, M.; Holm, J.; Beekhuizen, J. G.; Stolle-Smits, T.; Boeriu, C. Texture of cooked potatoes (*Solanum tuberosum*). 1. Relationships between dry matter content, sensory-perceived texture, and near-infrared spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50 (18), 5082–5088.
- (17) Haase, N. U. Rapid estimation of potato tuber quality by near-infrared spectroscopy. *Starch* 2006, 58 (6), 268–273.
- (18) Lu, G.; Huang, H.; Zhang, D. Prediction of sweetpotato starch physicochemical quality and pasting properties using near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chem.* 2006, 94 (4), 632–639.
- (19) Martens, M.; Naes, T. Assessment, Validation and Choice of Calibration Method. In *Multivariate Calibration*; Wiley: New York, 1989.
- (20) Simnaeve, G.; Dardenne, P.; Agnecssens, P.; Biston, R. The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1994, 2, 79–84.
- (21) Williams, P. A Short Course in the Practical Implementation of near-Infrared Spectroscopy for the User. In *Near-Infrared Technology: Getting the Best out of Light*, 5.3 ed.; PDK Projects, Inc.: Nanaimo, Canada, 2003.
- (22) Saey, W.; Mouazen, A. M.; Ramon, H. Potential for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Biosyst. Eng.* 2005, 91, 393–402.
- (23) Ceballos, H.; Sánchez, T.; Chávez, A. L.; Iglesias, C.; Debouck, D.; Malla, G.; Tohme, J. Variation in crude protein content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *J. Food Comp. Anal.* 2006, 19, 589–593.

- (24) Chávez, A. L.; Sánchez, T.; Jaramilo, G.; Bedoya, J. M.; Echeverry, J.; Bolaños, E. A.; Ceballos, H.; Iglesias, C. A. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. *Euphytica* 2005, 143, 125–133.
- (25) Wang, J. K.; Taro, A. Review of *Colocasia esculenta* and Its Potentials; University of Hawaii Press: Honolulu, HI, 1983; p 397.
- (26) Aregheore, E. M.; Perera, D. Dry matter, nutrient composition and palatability/acidity of eight exotic cultivars of taro (*Colocasia esculenta*) in Samoa. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2003, 58, 1–8.
- (27) Aghar Egbe, T.; Tréche, S. Evaluation of the chemical composition of Cameroonian yam germplasm. *J. Food Comp. Anal.* 1995, 8, 274–283.
- (28) Egesi, C.; Asiedu, R.; Egunjobi, J. K.; Bokanga, M. Genetic diversity of organoleptic properties in water yam (*Dioscorea alata* L.). *J. Sci. Food Agric.* 1998, 83, 858–865.
- (29) Tamiru, M.; Maass, B. L.; Pawelzik, E. Characterizing diversity in composition and pasting properties of tuber flour in yam germplasm (*Dioscorea* spp.) from Southern Ethiopia. *J. Sci. Food Agric.* 2008, 88, 1675–1685.
- (30) Baah, F. D.; Maziya-Dixon, B.; Asiedu, R.; Oduro, I.; Ellis, W. O. Nutritional and biochemical composition of *D. alata* (*Dioscorea* spp.) tubers. *J. Food Agric. Environ.* 2009, 7 (2), 373–378.
- (31) Chen, J. Y.; Miao, Y.; Sato, S.; Zhang, H. Near infrared spectroscopy for determination of the protein composition of rice flour. *Food Sci. Technol. Res.* 2008, 14 (2), 132–138.
- (32) Himmelsbach, S.; Barton, F. E.; McClung, A. M.; Champagne, E. T. Protein and apparent amylose contents of milled rice by NIR-FT/Raman spectroscopy. *Cereal Chem.* 2001, 78 (4), 488–492.
- (33) Osborne, B. G. The use of near infrared reflectance spectroscopy in the control of flour protein content. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2007, 36, 364–366.
- (34) Osborne, B. G.; Douglas, S.; Fearn, T. The application of near infrared reflectance analysis to rapid flour testing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2007, 17, 355–363.
- (35) Vázquez, D.; Williams, P. C.; Watts, B. NIRS Spectroscopy as a Tool for Quality Screening. In *Wheat production in Stressed Environment*; Buck, H. T. et al., Eds.; Springer: New York, 2007; pp 527–533.
- (36) Bao, J. S.; CM., Y. Z.; Corke, H. Prediction of rice starch quality parameters by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Food Sci.* 2001, 66 (7), 936–939.
- (37) Roussel, V.; Branlard, B.; Vézine, J. C.; Bertrand, D.; Balfourier, F. NIRS analysis reveals temporal trends in the chemical composition of French bread wheat accessions cultivated between 1800 and 2000. *J. Cereal Sci.* 2005, 42 (2), 193–203.
- (38) Sosulski, F. W.; Imafidon, G. I. Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *J. Agric. Food Chem.* 1990, 38 (6), 1351–1356.
- (39) Mariotti, F.; Tomé, D.; Patureau Mirand, Ph. Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones' factors. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008, 48 (2), 177–184.
- (40) Purcell, A. E.; Walter, W. M.; Nicholaides, J. I. Nitrogen, potassium, sulfur fertilization, and protein-content of sweet-potato roots. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1982, 107 (3), 425–427.
- (41) Go, O.; Ory, R. L.; Graves, E. E. Protein-nitrogen conservation in fresh stored *Dioscorea* yams. *ACS Symp. Ser.* 1986, 312, 261–272.
- (42) Yeoh, H. H.; Truong, V. D. (1996) Protein contents, amino acid compositions and nitrogen-to-protein conversion factors for cassava roots. *J. Sci. Food Agric.* 1996, 70 (1), 51–54.
- (43) Woodcock, T.; Downey, G.; O'Donnell, C. P. Better quality food and beverages: the role of near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2008, 16, 1–29.

Received for review July 31, 2009. Revised manuscript received October 8, 2009. Accepted October 15, 2009. This project was funded by FTEM (Fond Français pour l'Environnement Mondial).

Annexe 5 : Poster présenté au "14th triennial symposium of the International Society for Tropical Root Crops". 2006, Thiruvananthapuram, Kerala, Inde.



Development of a methodology for the on-farm conservation of root crops diversity

J. Sardos¹, R. Malapa¹, S. Muller¹, A. Champagne¹ & V. Lebot²

¹VARTC, PO Box 231, Luganville, Vanuatu ; ²CIRAD, PO Box 946, Port-Vila, Vanuatu (www.agrobiodivariants.org)

Many developing countries have found great difficulty in sustaining the conservation and genetic improvement of root crops. Conservation is fraught with difficulty: *ex situ* collections are expensive to maintain and methods for on-farm conservation have not been studied. This project is testing the hypothesis that the geographical distribution of allelic diversity can represent an efficient and practical alternative to present conservation and use activities.

Materials and Methods

Ten villages were selected, each on a different island (figure 1) based on their locations in the different agro-ecological zones of Vanuatu, Melanesia. In order to compare the two major agrosystems of the country, five villages having taro (*C. esculenta*) as a dominant crop and five villages having yams (*Dioscorea* spp.) as a dominant crop were chosen. Village selection also took into consideration:

- a) the fact that each village should be representative of the situation on the island,
- b) that it should have an easy access,
- c) that local knowledge and cultural traditions are well preserved and
- d) that there are no other major projects which could interfere with the methodological test



Figure 1 Map of Vanuatu

A data base (in Excel®) was compiled recording passport data, major morphological traits of the aerial and underground organs, traditional knowledge and uses for each cultivar (CIRAD, 2006). In the mean time, exotic and selected genotypes were propagated and distributed for farmers participative assessment prior to their insertion in variety portfolios (figure 2). These were selected for their diverse and distant geographic origins, wide genetic distances (assessed with molecular markers), combs and tubers quality, agronomic performances, and functional sexuality.

This survey confirms the remarkable richness of root crops agrobiodiversity in Vanuatu. Interviews (Figure 3) conducted with farmers indicate that there are five main sources of diversity:

- 1) the heritage is composed of cultivars known to be of great ancestry
- 2) those obtained while exchanging cultivars with surrounding villages during ceremonies,
- 3) recent informal introductions from other islands and/or countries,
- 4) selection of volunteer plants resulting from the germination of true botanical seeds, and
- 5) selection of somatic mutant



Figure 2 Taro survey in Lamliu (Tanna)

Results

In each village, germplasm was collected, documented and characterised (table 1).

Table 1: Accessions collected and documented in 10 villages, each located on a different island.

Species, Island:	Da	De	Dca	Dn	Dp	Ds	Dsp	F	Ce	Am	Xs	Ab	Me	Total	
Accession, Isolo	27	8	2	5	8	2	1	10	61	8	3	5	2	8	79
Island, Penang	20	3	2	1	3	3	2	8	42	9	3	4	7	17	82
Genus, Malacca	40	9	1	0	2	2	1	8	77	4	2	4	3	7	97
Endo, Amoyen	11	7	1	10	7	2	2	8	45	11	1	5	10	10	83
Burundik, Sulu	24	4	1	4	8	0	1	3	42	13	3	5	8	11	82
Paritane, Sulu	42	3	0	2	2	3	1	7	59	101	4	3	8	20	201
Lamliu, Tawar	12	1	0	2	3	0	0	0	18	28	0	7	7	13	71
Milneby, Malacca	14	1	0	2	3	0	1	4	28	24	5	3	8	5	110
Lokafon, Amoyen	4	0	1	2	3	0	1	3	14	72	4	4	8	9	106
Lamliu, Sulu	14	3	1	11	7	2	1	3	42	29	1	5	8	13	98
Total	214	30	5	43	40	12	11	49	423	408	20	48	85	116	1080

Note: The first five islands are those with an agrosystem based on yams while the other five, in shaded lines, have an agrosystem based on taro. Da: *Dioscorea alata*, the gratia yam; De: *D. esculenta*, Chinese or water yam; Dcr: *D. cayenensis*, African yam; Dn: *D. nymphaea*, wild yam; Dp: *D. bulbifera*, bulbiferous yam; Dsp: *D. pentstemonifolia*, five fingered yam; Ds: *D. trifida*, cash-cash yam; Dsp: *Dioscorea* sp., poorly identified species; Y: total of different yam species; Ce: *Colocasia esculenta*, taro; Am: *Allopecurus macrorhiza*, elephant ear; Xs: *Xanthosoma sagittifolium*, cocoyam; Ab: *Ipomoea batatas*, sweet potato; Me: *Manihot esculenta*, cassava.

Vanants (seedlings and/or mutants) are retained if their morphotype appears to be significantly different. Once identified, new morphotypes are protected and left to grow until maturity when they are tasted and processed into *laplap* (a pudding, representing the national dish).



Figure 3 Our team interviewing farmers in Lamliu (Tanna)

If vanants are found acceptable they are retained, cloned and baptised under a new name. For a given genotype, the morphotype is used to trace a particular chemotype. Chemotypes of interest are those with suitable amylose/starch ratio for *laplap*, and/or particular compounds (i.e., carotenes, anthocyanins, etc.).

Conclusions

Farmers' perception of root crops agrobiodiversity follows a dynamic process (Lebot *et al.*, 2005). Many genotypes are ancient but a few can constantly replacing each others. It is hypothesised that a dynamic conservation system can satisfy present farmer's requirements while contributing to long term selection objectives.

All accessions are now maintained in the germplasm collection at VARTC and are being fingerprinted with micro satellite markers to obtain an accurate picture of the existing diversity. This work will be used as a reference during the next four years to appreciate the progress made and the achievements realised while injecting new alleles, under the form of new genotypes, in farmers' variety portfolios.

References

- CIRAD, 2006. FFEM Rootcrops Agrobiodiversity Project annual report 2005, Montpellier France.
Lebot V., Ivanic A. and K. Abraham, 2005. The geographical distribution of allelic diversity, a practical means of preserving and using minor root crop genetic resources. *Experimental Agriculture*, Vol. 41, 475-489.

Annexe 6 : Poster présenté aux "3èmes Journées Scientifiques du Réseau Français de Métabolomique et Fluxomique". 2008, Bordeaux, France.

Profils métaboliques de plantes tropicales à racines et tubercules du Vanouatou, Mélanésie



A. Champagne^{1,2}, S. Bernillon^{2,3}, A. Moing², L. Legendre¹, D. Rolin², V. Lebot⁴

¹ UJM St Etienne - LBVPAM - Faculté de Sciences et Techniques, 23 rue du Dr P. Michelon, 42023 Saint Etienne cedex 2, France

² UMR 619 INRA-Bordeaux 1-Bordeaux 2, Biologie du Fruit, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

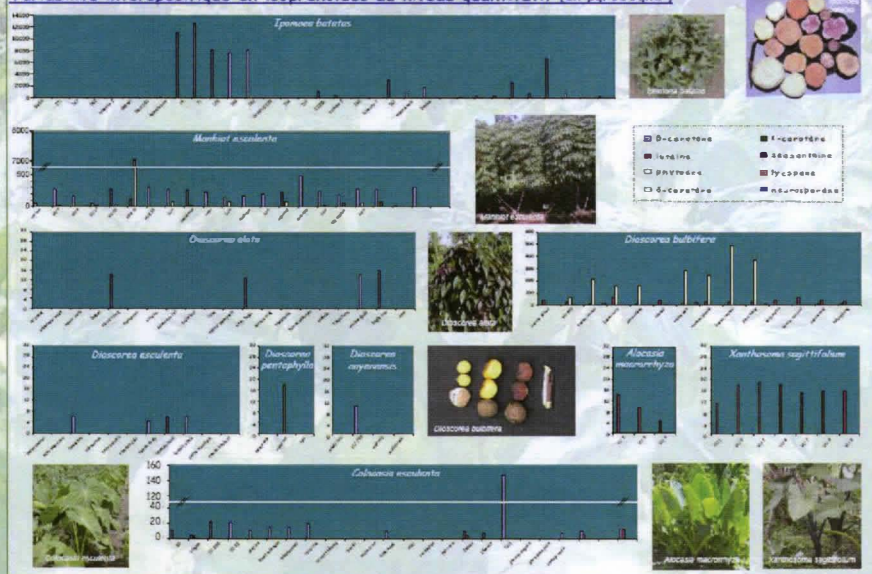
³ Pôle Métabolome-Fluxome - IFR103 BVI, Centre INRA de Bordeaux BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

⁴ CIRAD Vanouatou - UR 75 - Equipe Plantes Tubéreuses, P.O. Box 946, Port Vila, Vanouatou

Ce travail fait partie du projet « préservation et utilisation de l'agrobiodiversité de plantes à racines et tubercules au Vanouatou », et a donc pour objectif la sélection variétale. Puisque l'amélioration de plantes à multiplication végétative passe par le choix judicieux de parents ainsi que par le criblage de grands nombres au niveau des descendances, une caractérisation physico-chimique précise est nécessaire. Un échantillonnage représentant les principales plantes à racines et tubercules consommées au Vanouatou (Mélanésie), a donc été choisi pour constituer un large spectre de plantes appartenant à quatre familles botaniques différentes.

Les isoprénoides ont été extraits à l'acétone à partir de 163 échantillons lyophilisés, et les profils réalisés par CLHP. Les teneurs et compositions ont été déterminées à l'aide d'un détecteur à barrette de diodes et de standards choisis dans la voie de biosynthèse des caroténoïdes. Ceci permet d'établir des profils métaboliques pour étudier, chez ces plantes, la variabilité au niveau interspécifique.

Variabilité interspécifique en isoprénoides au niveau quantitatif (en µg/100gMF)



nom commun	nom botanique	Nombre variétés	β-carotène	lutéine	phytaène	zéaxanthine	neurosporene
Potato douce	<i>Ipomoea batatas</i>	30	nd-14543.1	nd	nd-tr	nd	nd
Manioc	<i>Manihot esculenta</i>	22	14.1-490.0	nd-4.8	tr-7032.4	nd	nd
Grande igname	<i>Dioscorea alata</i>	20	tr-15.1	nd-tr	nd-tr	nd-tr	nd
Igname bulbifère	<i>D. bulbifera</i>	14	nd-11.1	12.4-67.9	nd-488.2	nd-6.7	nd-20.9
Igname de Guinée	<i>D. cayenensis</i>	4	tr-10.1	nd-tr	nd	nd-tr	nd
Petite igname	<i>D. esculenta</i>	10	tr-6.6	tr-3.2	nd	nd-tr	nd
Igname rouge	<i>D. pterophylla</i>	3	nd-tr	nd	tr-18.6	nd	tr
Taro	<i>Colocasia esculenta</i>	24	tr-146.1	tr-11.4	nd-tr	nd-tr	nd
Macabo	<i>Xanthosoma sagittifolium</i>	7	nd	11.4-19.1	nd	nd-tr	nd
Alcose	<i>Alcornoque</i>	3	tr	tr-15.2	nd	nd	nd

Variabilité interspécifique, représentée par l'intervalle (min-max) des teneurs en isoprénoides

Valeurs exprimées en µg/100gMF. nd (non détecté), tr (traces). D. (*Dioscorea*), le lycopène, le β-carotène et le α-carotène n'ont pas été détectés.

Perspectives :

Ces plantes constituent l'alimentation de base des populations locales, et leurs propriétés organoleptiques sont, de ce fait, très importantes. Ces propriétés sont déterminées, d'une part, par les compositions et teneurs en composés majeurs (omidon, protéines, fibres, sucre...) en cours de mesure, et d'autre part, par les compositions et teneurs en métabolites secondaires, comme les isoprénoides (présentés ici) et les anthocyanes, qu'il reste à analyser.

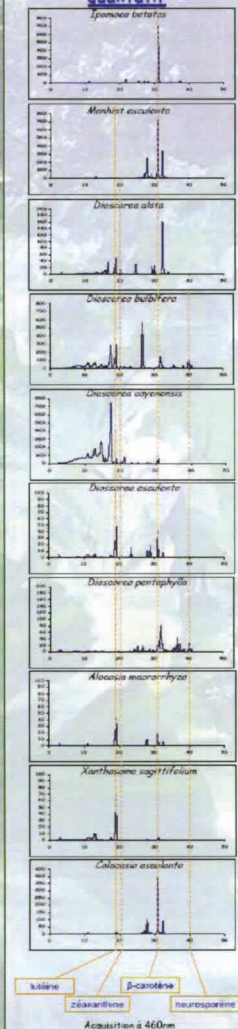
Ce projet est financé par le Fonds Français pour l'Environnement Mondial

Contacts : Antoine CHAMPAGNE champagne_antoine@hotmail.com

www.agrobiodiversite.org

3èmes Journées Scientifiques du Réseau Français de Métabolomique et Fluxomique, Bordeaux, 7-8 février 2008

Variabilité interspécifique en isoprénoides au niveau qualitatif

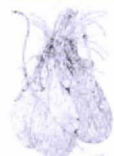


Chemotypic variation explaining traditional selection of tropical root crops in Vanuatu, South Pacific

Antoine Champagne^{1,2}, Laurent Legendre¹ & Vincent Lebot²

¹ Université Jean Monnet – Laboratoire de Biologie Végétale associée aux Plantes Aromatiques et Médicinales – St Etienne, France

² CIRAD-Vanuatu – UPR 75, Amélioration génétique d'espèces à multiplication végétative – Port Vila, Vanuatu



Background

In Vanuatu, Melanesia, root crops (aroids, cassava, sweet potato and yams) are staples. Several methods exist and are employed to process and cook these foods such as boiling, roasting or baking on hot stones. In Vanuatu, unlike other Melanesian and Pacific countries, these starchy foods are processed into the traditional dish called *laplap*, which is a pudding-like dish prepared from hand-grated fruits, corms, roots or tubers. The raw paste is wrapped in *Heliconia Indica* leaves and slowly steamed in a ground oven. Producers and consumers alike are unanimous to state that some cultivars are suitable for *laplap* while others are not. It is still unknown what the chemical characteristics of so-called "good" varieties are and how chemotypes are traditionally selected.

Primary compounds variation within each species (In % of dry matter).

Species	Acc. n°	Starch mean	Starch CV%	Total Sugars mean	Total Sugars CV%	Proteins mean	Proteins CV%	Minerals mean	Minerals CV%	Cellulose mean	Cellulose CV%
<i>D. nummularia</i>	4	87.69	3.7	1.43	113.1	6.51	40.2	2.31	25.1	1.64	10.8
<i>M. esculenta</i>	63	86.49	4.1	4.43	13.8	3.37	31.5	2.45	18.1	3.37	32.1
<i>X. sagittifolium</i>	9	86.24	4.1	2.18	15.6	4.84	13.7	3.38	34.5	3.33	48.9
<i>D. c. rotundata</i>	7	85.88	3.4	1.88	64.3	7.05	18.0	2.95	22.2	2.05	34.9
<i>D. spp.</i>	3	84.13	4.5	1.87	70.8	6.23	16.1	3.99	15.2	1.93	12.0
<i>D. transversa</i>	9	81.89	2.9	1.43	45.9	9.22	21.3	3.92	16.0	2.20	24.7
<i>C. esculenta</i>	111	78.22	7.2	5.09	57.9	5.31	55.7	4.02	25.3	3.36	31.0
<i>D. alata</i>	93	76.68	6.8	2.58	76.1	11.55	24.5	4.74	24.7	2.88	34.8
<i>D. bulbifera</i>	6	73.36	5.5	7.44	50.0	8.50	17.4	5.19	34.7	2.92	22.7
<i>D. esculenta</i>	14	72.47	7.5	11.29	31.7	7.52	22.9	5.41	17.3	2.08	33.5
<i>D. pentaphylla</i>	3	70.13	7.4	4.25	37.8	12.43	13.1	6.09	11.0	3.19	37.5
<i>I. bonitas</i>	183	69.62	9.5	10.22	46.7	5.85	21.8	3.49	24.0	4.22	40.8



Colocasia esculenta

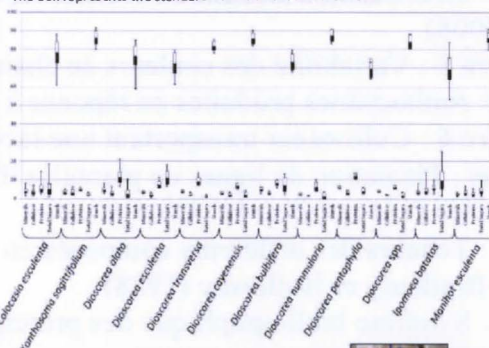


preparation of "laplap"



Primary compounds variability

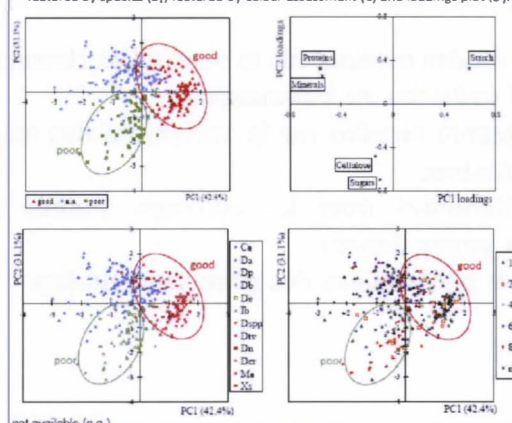
represented by the min-max intervals (% of dry matter, the vertical lines). The box represents the standard deviation around the mean.



PCA of 5 primary compounds

from 293 local accessions rated for preferences according to local consumers. Mean-centred data scaled to unit variance were used for PCA.

Score plot featured with quality for *laplap* preparation (A), featured by species (B), featured by colour assessment (C) and loadings plot (D).



Biofortification



Conclusion

This study highlighted the importance of understanding chemotypic diversity before clonal selection of elite cultivars. Broad genetic bases were expected through the chemical expression of genotype and potentials for biofortification were demonstrated. Relationships between primary compounds, flesh colours and quality have been studied and starch was often negatively correlated with other primary compounds. Our original results show correlations very useful in suggesting associations that can be exploited to facilitate tropical root crop biofortification. Flesh colours do not constitute limitation to biofortification process and nevertheless can give way to nutritionist and breeders strategies. Daily and traditional uses related to consumer preferences were also in accordance with potential biofortification but different breeding programs should be initiated to convene local requirements.

This research was financially supported by the FFEM (Fonds Français pour l'Environnement Mondial)

NutrEvent 2009, Lille 17-18 June



LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Chapitre 1 : Tarodière irriguée du chef Benoit (Pesséna, Espiritu Santo)

Fig. 1 : Principales RT cultivées au Vanouatou

Fig. 2 : Variabilité morphologique de tubercules d'ignames au Vanouatou

Fig. 3 : Variabilité morphologique de cormes de taro au Vanouatou

Fig. 4 : Jardin mélanésien traditionnel : un système particulier de végéticulture

Fig. 5 : Carte du Vanouatou présentant les villages concernés par les collectes

Fig. 6 : La sélection de nouveaux génotypes est basée sur des caractères phénotypiques visibles et entraîne donc l'élimination de chimiotypes potentiellement intéressants (Lebot *et al.*, 2005)

Chapitre 2 : Echantillons de matière sèche de taro

Fig. 7 : Préparation du *laplap* taro, plat traditionnel au Vanouatou

Chapitre 3 : Marmite de racines de différents cultivars de manioc bouillis

Fig. 8 : Voie de biosynthèse des caroténoïdes chez les plantes, d'après Hirschberg (2001)

Fig. 9 : Activités des caroténoïdes sur la santé d'après Rao et Rao (2007)

Chapitre 4 : *Laplap* igname (*D. alata*), cuit à l'intérieur d'une tige de bambou (*Phyllostachys* sp.)

Fig. 10 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes chez les plantes d'après Winkel-Shirley (2001)

Fig. 11 : Structure moléculaire des anthocyanidines majeures chez les plantes d'après Castañeda-Ovando *et al.* (2009)

Fig. 12 : Structure moléculaire des anthocyanes majeures de patate douce d'après Suda *et al.* (2008)

Fig. 13 : Structure moléculaire des acides chlorogéniques majeurs de la patate douce d'après Suda *et al.* (2008)

Chapitre 5 : Variabilité des couleurs de chair de cormes de taro au Vanouatou

Fig. 14 : Anthocyanes produites en réponse à l'attaque d'un corme de taro par un scarabée

Chapitre 6 : Cultivateur transportant une racine de manioc

Annexes : Plantation de lignes de plantules d'hybrides de taro

Tab. 1 : Teneurs des différents composés en % sur 100g de matière fraîche d'aliments non cuits d'après Bradbury et Holloway (1988)

Tab. 2 : Synthèse bibliographique des principales études menées sur la variabilité chimiotypique des composés majeurs et comparaison avec les RT cultivées au Vanouatou.

Tab. 3 : Synthèse bibliographique des études majeures menées sur la variabilité des teneurs en caroténoïdes principaux chez la patate douce et le manioc

Tab. 4 : Récapitulatif des compositions en caroténoïdes pour les cultivars étudiés dans la littérature et dans notre travail (sauf le manioc et la patate douce)

Tab. 5 : Récapitulatif des compositions en composés phénoliques des génotypes étudiés

Résumé

L'agrobiodiversité s'étudie au niveau génotypique mais également au niveau de l'expression chimique de ce génotype, le chimiotype. Les plantes à racines et tubercules tropicales (manioc, patate douce, ignames et taros) sont multipliées par voie asexuée et les bases génétiques sont bien souvent étroites chez les cultivars traditionnels. Malgré les faibles diversités génétiques révélées à l'aide de marqueurs ADN, les chimiotypes sont très variables et leur étude est riche d'informations. Ces cultures vivrières, plantes amylacées mais aussi sources de molécules intéressantes pour les industries alimentaire et pharmaceutique, tiennent un rôle déterminant dans la garantie de la sécurité alimentaire des pays du Sud. Dans cette optique, leur amélioration génétique par voie conventionnelle est une contribution majeure aux enjeux actuels. De nombreux efforts restent néanmoins à réaliser pour analyser, compiler et disséminer les informations liées à la diversité des compositions et teneurs de plantes qui restent sous-utilisées ou non appréciées à leur juste valeur.

La biofortification qui vise une amélioration des propriétés nutritionnelles de ces plantes, présente de nombreux avantages dont le principal est de ne pas modifier les comportements alimentaires tout en permettant une meilleure adaptation environnementale des nouveaux génotypes. Leur amélioration passe par une sélection des parents basée sur leurs valeurs propres et le criblage de grands nombres d'individus hybrides. Le processus est long et fastidieux. L'élaboration de nouveaux outils permettant une optimisation de cette tâche est donc nécessaire.

L'analyse d'échantillons représentatifs de la variabilité chimiotypique des collections du Vanouatou, un archipel Mélanésien abritant une riche agrobiodiversité, a permis d'étudier les relations entre composés majeurs, métabolites secondaire et préférences alimentaires locales. Les corrélations mises en évidence permettent d'apporter des éléments utiles à la compréhension du processus de sélection traditionnelle. L'identification des préférences visées par ce processus aident à comprendre les goûts et les attentes des consommateurs, et donc à mieux définir les idéotypes ciblés par les programmes d'amélioration. Ce travail a permis un premier criblage chimiotypique d'un grand nombre de cultivars appartenant aux deux espèces majeures, le taro (*Colocasia esculenta*) et la grande igname (*Dioscorea alata*).

L'étude des isoprénoides et des anthocyanes a permis d'identifier un certain nombre de cultivars comme parents potentiellement intéressants pour la biofortification mais aussi pour l'exploitation commerciale directe des clones. La caractérisation des hybrides, obtenus par panmixie et pollinisations libres au cours de cycles de sélection récurrente, indique que des gains importants sont obtenus pour des composés et métabolites essentiels.

Les avancées réalisées dans le cadre de ce travail, et leurs conséquences pour les programmes d'amélioration génétique en cours, sont discutées. Les perspectives de mise au point de nouveaux outils de criblage et de nouvelles méthodes de caractérisation qui permettront *in fine* une meilleure approche de la biofortification de ces cultures vivrières, sont aussi envisagées.

Mots Clefs : amélioration génétique conventionnelle, anthocyanes, aracées, composés phénoliques, diversité chimiotypique, igname, isoprénoides, manioc, patate douce, plantes à racines et tubercule, sélection traditionnelle, taro.